EXPERIENTIA

EST EXPERIENTIA SCIENTIA PARACELSUS

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

EDITORES
A. v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE
BERN ZÜRICH GENÈVE

REDACTOR: H. MISLIN, BASEL

UNIVERSITY OF
LIBRARY
MAR 8 '49

Vol. IV · 1948

VERLAG BIRKHÄUSER · BASEL
SUISSE - SCHWEIZ - SVIZZERA - SWITZERLAND

Digitized by the Internet Archive
in 2023 with funding from
Kahle/Austin Foundation

https://archive.org/details/cellular-and-molecular-life-sciences_1948_4_1

EXPERIENTIA

EST EXPERIENTIA SCIENTIA PARACELSUS

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
A.v.MURALT · L.RUZICKA · J.WEIGLE
Bern Zürich Genève

Redactor: H. MISLIN, Basel

VERLAG BIRKHÄUSER AG. · BASEL 10
SUISSE - SCHWEIZ - SVIZZERA - SWITZERLAND

UNIVERSITY OF HAWAII
FEB 26 1948
LIBRARY

Vol. IV - Fasc. 1 15. I. 1948 Fr. 2.50

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

H. Börsch: Ionenübermikroskopie 1
A. Stoll: Einführung in die Chemie der Hämine 6

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief reports

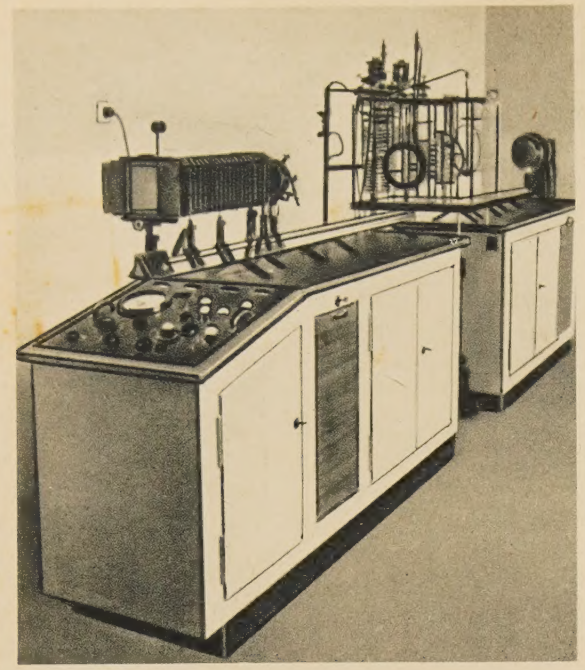
S. Letestu: Note sur l'analyse discriminatoire 22
W. Kuhn: Möglicher Einfluß chemischer Gleichgewichte auf Viskosität und Relaxationszeit im Erdinnern 23
R. Goutarel, M.-M. Janot und V. Prelog: Über die Konstitution des Sempervirins 24
G. Anner und K. Miescher: Die Totalsynthese des natürlichen Östrons 25
R. Matthey: A propos de la polyploïdie de *Saga pedo Pallas* (*Orthoptera-Tettigoniidae*) . . . 26
R. Matthey et R. Bovey: La formule chromosomique chez cinq espèces de Chiroptères . . . 26
H. Mislin: Das Elektrovenogramm (Evg) der isolierten Flughautvene (*Chiroptera*) 28
F. Bertossi e R. Ciferri: Notizie preliminari sull'azione fitodinamica dell'acido difenililacetico sulla pianta del tabacco 28
E. Boeri: The Physiological Importance of the Interaction of Oxygenation between the Heme Groups of Hemoglobin 29
S. Markees und F. W. Meyer: Zum Problem des Stoffwechsels der Brenztraubensäure *in vivo* 31
J. Barnóthy and M. Forró: Lethal Effect of Cosmic Ray Showers on the Progeny of Animals 31
I. Magyar: Urinary Excretion of Water-soluble Vitamins and Phosphorylation 33
B. N. Halpern et S. Cruchaud: Prévention de l'œdème aigu expérimental du poumon par un antihistaminique de synthèse dérivé de la thiodiphénylamine 34
H. Süllmann: Über eine wässerige Carotinlösung (Pro Laboratorio) 35
G. Peeters, L. Massart, and W. Oyaert: Measuring Changes in Volume of the Teats of the Bovine Mammary Gland by means of Plethysmography (Pro Laboratorio) 36
K. Frey: Zur Theorie des Föhns (Disputanda) 36

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Animal Genetics and Medicine. By H. Grüneberg (Hamish Hamilton Medical Books, London, 1947) (Ref. E. Hadorn) 37
L'Evolution de la notion du phénomène physique des primitifs à Bohr et Louis de Broglie. By Jean Pelseneer (Office des cours du Cercle des Sciences de l'Université libre de Bruxelles, 1947) (Ref. J. O. Fleckenstein) 38

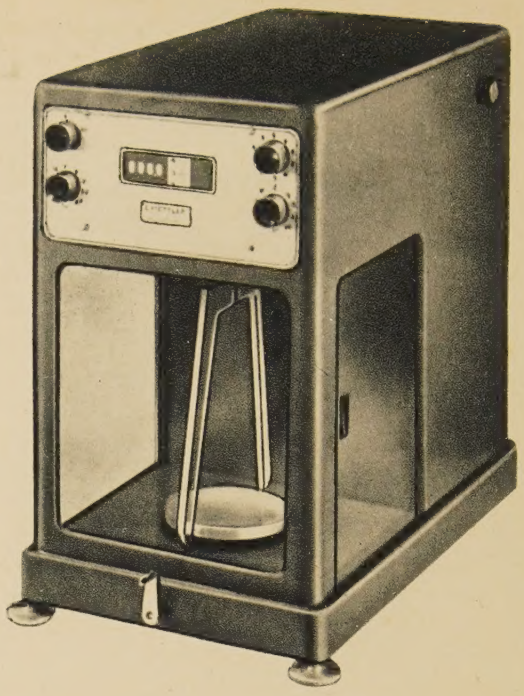
Informations - Informationen - Informazioni - Notes

Anatomical Congress, Bonn – Congrès 39/40



High Precision **Electrophoresis**
for direct diagram recording
for Philpot diagram recording
for scale records
outfit **Fokal-B**

Manufactured by **STRÜBIN & Co.**, Basle, Switzerland
Gerbergasse 25



Analysenwaagen (Schnellwaagen)
Maximalbelastung 200 g, optischer Bereich 100 mg
Ablesegenauigkeit je nach Type $^1/_{10}$, $^1/_{20}$ mg

E. METTLER Präzisionsapparate
KÜSNACHT-ZCH. Telephon (051) 91 16 50

BILAMID

Neu!

Das neue Chemotherapeutikum zur Behandlung entzündlicher Erkrankungen der Gallenblase, der Gallenwege und des Darmes

Indikationen: CHOLECYSTITIS
CHOLANGITIS
CHOLELITHIASIS
GASTROENTERITIS
GASTRODUODENITIS

Packungen *20, 50 und 250 Tabletten zu 0,5 g*
5 und 25 Ampullen zu 4%

CILAG
SCHAFFHAUSEN

64-06672

EXPERIENTIA

Vol. IV - Fasc. 1 Pag. 1–40 15. I. 1948

Q1
A1E9

Ionenübermikroskopie

Von H. Börsch[1]

Ein Entwicklungsziel der Mikroskopie ist die Steigerung des Auflösungsvermögens bis zur Auflösung und Sichtbarmachung der Atome. Die heute üblichen Methoden der Elektronenmikroskopie und ihre kontinuierliche Entwicklung durch Verbesserung der heute üblichen Linsen scheinen dazu nicht imstande zu sein. Daher ist es notwendig, sich nach anderen Methoden umzusehen, die dieses Ziel zumindest im Prinzip zu erreichen gestatten. Eine dieser Methoden scheint die Ionenübermikroskopie[2] zu sein, die anstelle von Elektronen als Ladungsträger Ionen benutzt. Die Grundlagen der Ionenmikroskopie sollen hier daher einer eingehenderen Betrachtung unterzogen werden.

Erinnern wir uns zunächst einmal, daß das Auflösungsvermögen des Elektronenmikroskops prinzipiell durch das Zusammenwirken von Linsenfehler und Beugungsfehler begrenzt ist. Zu den unvermeidlichen Linsenfehlern gehört in erster Linie der Öffnungsfehler. Unter optimalen Verhältnissen besitzen der Durchmesser des *Öffnungsfehlerscheibchens*

$$d_{\delta} = 2\,C_{\delta}\vartheta^3 \tag{1}$$

und der Durchmesser des *Beugungsfehlerscheibchens*

$$d_B \approx \frac{\lambda}{\vartheta} \tag{2}$$

angenähert gleiche Größe. (C_{δ} = Öffnungsfehlerkonstante, ϑ = Objektivapertur, λ = Wellenlänge.) Hieraus ergibt sich die *optimale Objektivapertur*

$$\vartheta_{opt} \approx C_{\delta}^{-1/4}\,\lambda^{1/4} \tag{3}$$

und die *optimale Auflösung*

$$d \approx C^{1/4}\lambda^{3/4}. \tag{4}$$

Nach (4) beträgt das optimale Auflösungsvermögen der besten heutigen elektrostatischen (e) und magnetischen (m) Linsen für Elektronenstrahlen von 60 keV Geschwindigkeit $d_e = 16$ Å bzw. $d_m = 8$ Å (vgl. Tabelle), bei Objektivbrennweiten $f_e = 5{,}6$ mm bzw. $f_m = 2{,}6$ mm.

Da die *Öffnungsfehlerkonstante* in erster Näherung proportional der Brennweite des Objektivs ist, kann das Auflösungsvermögen nach (4) durch *Verringerung der Brennweite* prinzipiell beliebig groß gemacht werden. Um zum Beispiel Atome mit einem Durchmesser von 2 Å abzubilden, wäre demnach eine Verringerung der Brennweite des magnetischen Objektivs um den Faktor $^1/_{256}$ erforderlich. Die Möglichkeit, die beabsichtigte Verkürzung der Brennweite durch *Verringerung der geometrischen Linsendimensionen* zu erreichen, muß als aussichtslos ausgeschieden werden, da die gleichzeitig notwendige Erhöhung der magnetischen und elektrischen Feldstärke um den gleichen Betrag wegen der Sättigung des Eisens in der magnetischen Linse und wegen der Überschlagsgefahr in der elektrostatischen Linse nicht möglich erscheint. Auch würde die prozentuale Bearbeitungsgenauigkeit der Linsen entsprechend abnehmen, so daß sich andere Linsenfehler, wie Astigmatismus usw., auflösungsbegrenzend in den Vordergrund schieben.

Die andere Möglichkeit zur Auflösungssteigerung besteht nach (4) in der *Verkürzung der Wellenlänge.*

Nach der Beziehung von de Broglie,

$$\lambda = \frac{h}{v \cdot m} \approx \frac{h}{\sqrt{2\,m\,e\,U}} \tag{5}$$

könnten kürzere Wellenlängen durch *höhere Elektronenvoltgeschwindigkeiten U* hergestellt werden. Jedoch ist mit der Erhöhung der Voltgeschwindigkeit eine Vergrößerung der Öffnungsfehlerkonstanten verbunden, da z. B. bei elektrostatischen Linsen der Abstand der Elektroden und damit die Minimalbrennweite wegen der Überschlagsgefahr proportional der Elektronenvoltgeschwindigkeit ist. Damit wird aber auch die Öffnungsfehlerkonstante proportional der Elektronenvoltgeschwindigkeit, so daß für elektrostatische Linsen

$$d \sim U^{-1/8} \tag{6}$$

gilt. Für magnetische Linsen gelten ähnliche Zusammenhänge. Auch eine Spannungserhöhung bringt also bei den heute üblichen Linsen keinen wesentlichen Gewinn an Auflösungsvermögen, denn um nur eine Auflösungserhöhung des Faktors 2 zu erreichen, müßte die Spannung um den Faktor 256 erhöht werden.

[1] Institut de Recherches Scientifiques, Tettnang (Württemberg).

[2] H. Börsch, Jb. AEG.-Forschung 7, 27 (1940); Naturwiss. *30*, 711 (1942). – Cl. Magnan in: L. de Broglie, «L'optique électronique», Paris 1946.

Nach der Beziehung von de Broglie (5) bleibt jetzt noch die *Erhöhung der Masse*[1] der Ladungsträger übrig, also die Verwendung von Ionen anstelle von Elektronen, um eine Verkürzung der Wellenlänge zu erzielen. Als Funktion der Masse und der Voltgeschwindigkeit U lautet die Beziehung (3) über das optimale Auflösungsvermögen

$$d \approx C_\delta^{1/4} h^{3/4} (2 e m U)^{-3/8}. \quad (7)$$

Für die Abbildung mit Ionenstrahlen kommen *nur elektrostatische* Linsen in Betracht, da deren Brennweite und Öffnungsfehlerkonstante bei gleicher Voltgeschwindigkeit unabhängig von der Masse der Ladungsträger ist. Die Brennweite magnetischer Linsen ist dagegen proportional der Wurzel aus der Masse der Ladungsträger.

In der Tabelle ist das optimale Auflösungsvermögen für Elektronen und Ionen verschiedener Masse bei einer Voltgeschwindigkeit von 60 kV sowie die experimentell erreichten Auflösungen d_{exp} zusammengestellt. Es wurde eine elektrostatische Linse ($f = 5{,}6$ mm) zugrunde gelegt, deren Öffnungsfehlerkonstante ($C_\delta = 5{,}5$ cm) nach dem Verfahren des Verfassers aus der Verzeichnung eines schattenmikroskopischen Bildes[2]

	Elektrische Linse			Magnetische Linse
	e^-	H^+	Li^+	Cs^+	e^-
λ	490	12,0	4,5	1,0	$490 \cdot 10^{-12}$ cm
δ_{opt}	3,1	1,2	0,95	0,66	$6{,}2 \cdot 10^{-3}$
ΔU	1,6	0,25	0,15	0,07	3,8 Volt
d	16	0,96	0,47	0,16	7,9 Å
d_{exp}	28*		500[3]		12** Å

* Das Auflösungsvermögen von 28 Å wurde im November 1944 mit dem elektrostatischen Elektronenmikroskop[4] aus dem Abstand getrennter Objektpartikel bestimmt.

** Das Auflösungsvermögen von 12 Å wurde im November 1944 durch den Verfasser mit dem magnetischen Siemens-Übermikroskop aus dem Abstand getrennter Objektpartikel bestimmt.

bestimmt worden war. In der Tabelle sind ferner die Daten einer magnetischen Linse aufgenommen, deren Öffnungsfehler $C_\delta = 3{,}3$ mm von Dosse[5] nach dem gleichen Verfahren bestimmt worden war. Die angenäherte Übereinstimmung zwischen dem theoretischen und dem experimentell erreichten elektronenoptischen Auflösungsvermögen kann als Beweis für die Richtigkeit der angestellten Überlegungen gelten.

Außerdem ist in der Tabelle die *optimale Objektivapertur* angegeben, die zur Erzielung der optimalen Auflösung notwendig ist. Im Elektronenmikroskop finden nun im Experiment wesentlich größere als die optimalen Objektivaperturen Anwendung, um Störungen durch Aufladungen usw. an den Rändern der Aperturblende möglichst zu vermeiden. Damit aber die tatsächlich ausgeleuchtete Objektivapertur von der Größenordnung der optimalen wird, darf die Kondensorapertur nicht größer als die optimale Objektivapertur werden. Aber auch bei reeller optimaler Objektivapertur ist es sinnlos, eine höhere Kondensorapertur zu wählen als die optimale Objektivapertur, da sie nicht zu einer höheren Bildhelligkeit beiträgt, sondern die Kontraste herabsetzt und das Objekt nur unnötig belastet. Die gleichen Gründe sprechen auch im Ionenmikroskop für eine Herabsetzung der Kondensorapertur unter das Maß der in Tabelle angegebenen optimalen Objektivapertur.

Damit die angegebene optimale Auflösung nicht durch den *chromatischen Fehler* beeinträchtigt wird, darf der Durchmesser des *chromatischen Fehlerscheibchens*

$$d_c = 2 C_c \frac{\Delta U}{U} \vartheta \quad (8)$$

höchstens so groß wie die optimale Auflösung werden. (C_c = chromatische Fehlerkonstante, U = Voltgeschwindigkeit der Ladungsträger, ΔU = mittlere Geschwindigkeitsstreuung in Volt.) Aus dieser Bedingung und den vorangegangenen Beziehungen (3, 4) ergibt sich der *Maximalwert der zulässigen Geschwindigkeitsstreuung* angenähert zu

$$\Delta U \approx C_c^{-1} C_\delta^{1/2} h^{1/2} (2 e m)^{-1/4} U^{3/4}. \quad (9)$$

Die chromatische Fehlerkonstante ($C_c = 2$ cm) der elektrostatischen Linse wurde vom Verfasser[1], die der magnetischen Linse ($C_c = 0{,}2$ cm) von Dosse[2] nach der erwähnten schattenmikroskopischen Methode bestimmt. Unter Zugrundelegung dieser Werte und einer Elektronenenergie von 60 ekV sind in der Tabelle Angaben über die Geschwindigkeitsstreuung ΔU gemacht, die das Objektiv nach (9) ohne wesentliche Einbuße an optimalem Auflösungsvermögen verarbeiten kann.

Die *Geschwindigkeitsstreuung* selbst kann schon von der Ionenquelle stammen oder durch die Wechselwirkung mit dem Objekt verursacht werden. Als *conditio sine qua non* muß also die Ionenquelle eine hinreichend monochromatische Strahlung liefern, die zumindest im Prinzip immer durch geeignete Spektrometeranordnungen hergestellt werden kann. Über die Geschwindigkeitsstreuung von Ionen in dünnsten Objekten liegen dagegen noch zu wenig Unterlagen vor, um auch nur qualitative Aussagen machen zu können. Es ist jedoch zu befürchten, daß wegen der besseren Impulsübertragung durch die größere Masse der Ionen die unelastischen Streuakte zahlreicher und auch intensiver als die von Elektronen sind. Es ist also nicht ausgeschlossen, daß das — durch die höhere Masse der

[1] H. Börsch, l.c.
[2] Jb. AEG.-Forschung *7*, 34 (1940); Z. techn. Physik *20*, 346 (1939).
[3] H. Börsch, Naturwiss. *30*, 711 (1942).
[4] H. Börsch, Phys. Z. *43*, 515 (1942).
[5] I. Dosse, Z. Phys. *117*, 722 (1941); *118*, 375 (1942).

[1] L. c.
[2] I. Dosse, Z. Phys. *117*, 722 (1941); *118*, 375 (1942).

Ionen bedingte — höhere optimale Auflösungsvermögen durch die — aus dem gleichen Grunde — erhöhte Impulsübertragung wieder herabgesetzt wird. Über das Verhältnis beider Effekte kann nur das Experiment Aufschluß geben.

Von den in der Tabelle aufgeführten Ionen ist das H^+-Ion bezüglich seines Feldes dem Elektron am ähnlichsten, während das Li^+- und das Cs^+-Ion noch zusätzlich Elektronen mit sich führen. Die Ausdehnung ihrer Elektronenwolken dürfte von der Größenordnung der Ionendurchmesser in Kristallen sein. Zum Beispiel beträgt der Ionendurchmesser (nach Pauling) des Li^+-Ions 1,2 Å, der des Cs^+-Ions 3,38 Å. Ob und unter welchen Bedingungen derartige Ionen durch feste Materie hindurchgehen, ist noch ganz ungewiß. Jedoch macht es, abgesehen von der geringeren Impulsübertragung, schon dieser Umstand wahrscheinlich, daß das nackte H^+-Ion am geeignetsten zur Erzielung hoher Auflösung ist.

Naturgemäß werden infolge der besseren Impulsübertragungen durch Ionen auch Veränderungen des Objekts durch Herausschlagen von Atomen, Anlagerungen aus dem Ionenstrahl, Umlagerungen usw. herbeigeführt, die ebenfalls einer Auflösungsbegrenzung gleichzusetzen sind.

Da aber über alle diese auflösungsbegrenzenden Faktoren noch zu wenig bekannt ist, besteht so lange Hoffnung, das Auflösungsvermögen des Elektronenmikroskops durch den Übergang zum Ionenmikroskop zu steigern, als nicht das Gegenteil bewiesen wird.

Versuche

Zur Beantwortung dieser Fragen wurden Versuche mit dem schon früher beschriebenen elektrostatischen Übermikroskop[1] durchgeführt. Es enthält zwei elektrostatische Linsen, die eine Maximalvergrößerung von 1:6000 zulassen. Durch Herabsetzung der Spannung an der Mittelelektrode des Projektivs (über ein Hochspannungspotentiometer) konnten auch geringere Vergrößerungen eingestellt werden. Das Objektiv besaß eine reelle Apertur von $1{,}8 \cdot 10^{-3}$, so daß das Öffnungsfehlerscheibchen nach (1) einen Durchmesser von 6,4 Å erhält.

Die üblicherweise benutzte Elektronenquelle konnte gegen eine Ionenquelle ausgetauscht werden. Infolgedessen konnten nacheinander elektronen- und ionenmikroskopische Aufnahmen hergestellt werden. Obwohl nach den vorausgegangenen Betrachtungen Protonen wahrscheinlich günstigere Eigenschaften besitzen, wurden die Untersuchungen wegen des geringeren experimentellen Aufwandes vorerst mit Alkaliionen durchgeführt.

Die Anforderungen, die an eine *Ionenquelle* gestellt werden müssen, sind folgende:

Geringe Geschwindigkeitsstreuung,
geringe Beleuchtungsapertur,
hohe Flächenhelligkeit,
große Ergiebigkeit,
leichte Regenerierbarkeit,
geringe Gasabgabe,
Unempfindlichkeit gegen schlechtes Vakuum.

Diese Forderungen erfüllt in fast idealer Weise die in Abb. 1 dargestellte Alkaliionenquelle, deren Prinzip von Koch[1] angegeben wurde. Sie besteht aus einem indirekt geheizten Molybdänrohr, dessen vorderes Ende mit ausgeglühtem Wolframpulver ausgefüllt ist. Ähnlich wie die normalen Haarnadelkathoden des Elektronenmikroskops ist die Ionenquelle mit einem positiv geladenen Wehnelt-Zylinder umgeben. Die Aktivierung der Ionenquelle erfolgt durch Einträufeln einer wäßrigen Lösung des Alkalisalzes in das Wolframpulver und anschließender Aufheizung in einem besonderen Pumpstand im Vakuum, so daß sich das Salz zersetzt und die überschüssige Substanz abdampft. Dann kann die Ionenquelle aus dem Vakuum entfernt und im Mikroskop benutzt werden. Lagerung in Luft ist unschädlich. Eine Aktivierung reichte für etwa 2—3 Aufnahmen aus. Es wurden Aufnahmen mit Li^+-, Na^+-, K^+- und Cs^+-Ionen hergestellt.

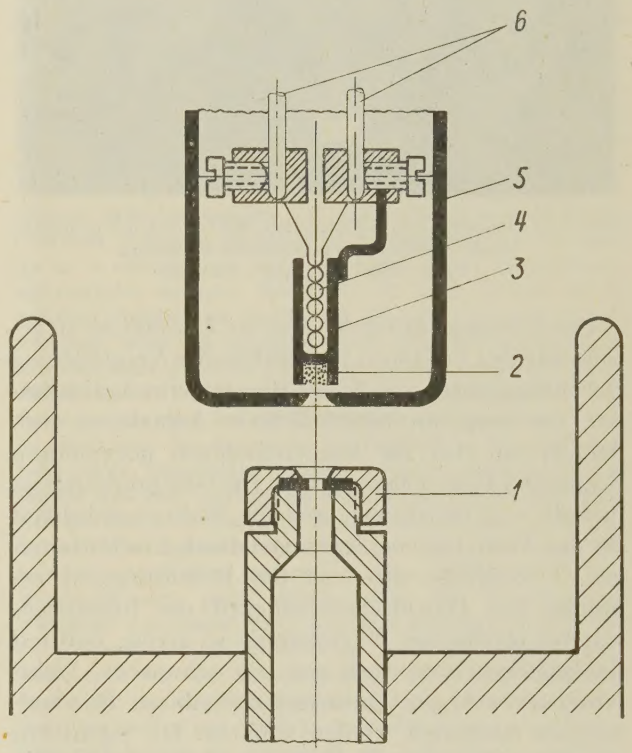


Abb. 1. Alkaliionenquelle. *1* Kathode mit Blenden, *2* eingepreßtes Wolframpulver, *3* Molybdänrohr, *4* keramisch isolierter Heizwendel, *5* Wehnelt-Zylinder, *6* Zuführung des Heizstromes.

[1] H. Börsch, Phys. Z. *43*, 515 (1942).

[1] J. Koch, Z. Phys. *100*, 669 (1936). – J. Koch und W. Walcher, Z. Phys. *97*, 131 (1936).

Entsprechend einer Betriebstemperatur von etwa 1000° C, die mit einem Glühfadenpyrometer überwacht werden konnte, erzeugt diese Ionenquelle nur Ionen mit einer *Geschwindigkeitsstreuung* von etwa 0,2 V. Bei dem gewählten Abstand vom Präparat betrug die *Beleuchtungsapertur* etwa $3 \cdot 10^{-4}$.

Abb. 2. Li^+-Ionenbild von freitragendem MgO-Rauch mit neutralem Fleck. Zweistufige ionenoptische Abbildung. $V_{Ion} = 1700:1$, $V_{gesamt} = 6200:1$.

Unter diesen Umständen war die *Leuchtdichte* so gering, daß bei Li^+-Ionen und 6000facher Vergrößerung Belichtungszeiten von 5—10 Minuten erforderlich waren, um auch nur unterbelichtete Aufnahmen (vgl. Abb. 5) auf den für Ionenaufnahmen notwendigen Schumann-Platten herzustellen. Die Belichtungszeit ist deshalb von Bedeutung, weil die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Störungen durch Erschütterungen, Überschläge usw. mit der Belichtungszeit zunimmt. Die Leuchtschirmhelligkeit des Ionenbildes war bei 6000facher Vergrößerung so gering, daß mit dunkeladaptiertem Auge nur ein schwacher Lichtschimmer wahrgenommen und deshalb nur Blindaufnahmen hergestellt werden konnten. Die eigentliche Objekteinstellung wurde daher mit Elektronenstrahlen oder mit dem vom Objektiv entworfenen ersten Leuchtschirmbild oder bei etwa 1000facher Vergrößerung auf dem Endbildleuchtschirm vorgenommen.

Die ersten ionenoptischen Abbildungen (vgl. Abb. 2 und 3a) wiesen einen auffallenden *hellen Fleck* im Zentrum der Aufnahme auf, der gleichzeitig mit dem ionenoptischen Bild auftauchte und verschwand. Der Zentralfleck der Abb. 3a wurde in Abb. 3b lichtoptisch auf den gleichen Durchmesser wie das Ionenbild der Abb. 3a vergrößert und um 180° gedreht wiedergegeben. Obwohl die Konturen der Abb. 3b undeutlicher als die der Abb. 3a sind, ist ohne weiteres erkennbar, daß beide Abbildungen gleichen Bildinhalt besitzen. Die Erklärung dieses Effektes besteht darin, daß der Zentralfleck durch *neutrale* Teilchen gebildet wird, die sich auf dem Wege zwischen dem Objektiv und dem Projektiv durch Neutralisation der Ionen gebildet haben und im Gegensatz zu den Ionen unbeeinflußt durch das elektrostatische Feld des Projektivs hindurchgegangen sind. Der Durchmesser des Zentralflecks und die Drehung um 180° finden hierdurch ihre unmittelbare Erklärung. In Übereinstimmung hiermit hat die in Abb. 4 wiedergegebene Ionenabbildung gleichen Durchmesser wie der Neutralfleck. Diese Ionenabbildung wurde nach Erdung der Mittelelektrode des Projektivs gewonnen und lichtoptisch im gleichen Verhältnis wie der Neutralfleck der Abb. 3b vergrößert. Abb. 4 (und daher auch Abb. 3b) stellt also eine einstufige ionenmikroskopische (bzw. neutrale) Abbildung allein mit dem Objektiv dar, deren Durchmesser durch die Bildfeldblende des Projektivs bestimmt wird.

Die *Unschärfe des Neutralbildes* wird durch die Unschärfe des ionenoptischen Bildes außerhalb der Bildebene des Objektivs und durch die Ablenkung der neutralisierten Teilchen bei der Neutralisation verursacht. Die aus der Abbildung 3b zu entnehmende Geringfügigkeit des Streuwinkels bei der Neutralisation steht in Übereinstimmung mit direkten Streuversuchen von Protonen.

Die Neutralisation der Ionen findet durch *Zusammenstöße mit dem Restgas* statt. Die Abhängigkeit der Intensität des Neutralflecks vom Dampfdruck konnte unmittelbar auf dem Leuchtschirm beobachtet werden. Zur Erzielung hoher Auflösung ist nach den Beobachtungen mit Li^+-Ionen demnach ein Dampfdruck von höchstens $5 \cdot 10^{-5}$ mm Hg zulässig, der ohne Schwierigkeit mit der Öldiffusionspumpe P und der einstufigen rotierenden Ölvorpumpe von Leybold aufrechterhalten werden konnte.

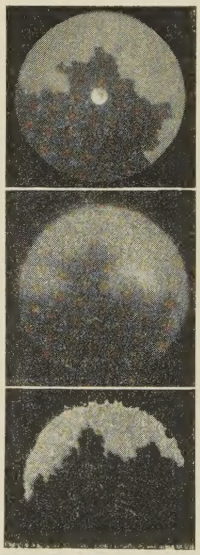


Abb. 3a. Li^+-Ionenbild mit neutralem Fleck. Zweistufige ionenoptische Abbildung. $V_{Ion} = 1700:1$.

Abb. 3b. Neutraler Fleck der Abb. 3a lichtoptisch auf den Durchmesser des Ionenbildes nachvergrößert und um 180° gedreht.

Abb. 4. Li^+-Ionenbild eines anderen Objekts. Einstufige ionenoptische Vergrößerung durch Ausschaltung des Projektivs. Gleiche lichtoptische Vergrößerung wie in Abb. 3b.

Um die Ausbildung des störenden Neutralflecks zu vermeiden, wurde im Projektiv eine *Aperturblende* von 0,05 mm Durchmesser angebracht. Diese Blende hatte andererseits den Vorteil, daß sie die Schwärzung der photographischen Schicht durch gelegentliche Entladungen und Überschläge im Projektiv verhinderte.

Unter diesen Voraussetzungen wurde die in Abb. 5 wiedergegebene Aufnahme von Zinkoxyd mit Li^+-Ionen bei einer Belichtungszeit von 7 Minuten erhalten.

Hier und in entsprechenden anderen Aufnahmen konnten erstmalig *ionen*übermikroskopische Auflösungen von 500 Å erreicht werden; allerdings war das *elektronen*mikroskopische Auflösungsvermögen der gleichen Apparatur noch um eine Größenordnung besser. Für diese Diskrepanz kann u.a. die Veränderung des Objekts durch die Ionenstrahlung verantwortlich sein.

Abb. 5. Li^+-Ionenbild von freitragendem ZnO-Rauch. $V_{Ion} = 6000:1$. $V_{gesamt} = 14500:1$.

Um einen Eindruck von der Größenordnung dieses Faktors zu gewinnen, wurde das Objekt aus freitragenden Zinkoxydkristallen vor und nach der Bestrahlung mit Lithiumionen (3fache Dosis der Abb. 5) elektronenoptisch abgebildet (nach Auswechslung der jeweiligen Strahlungsquellen und Umpolung der Hochspannung). Der Vergleich der Aufnahmen zeigte, daß einige Kristallnadeln durch die Bestrahlung mit Ionen bis zu 60–70 Å verbreitert worden waren. Die Diskrepanz zwischen dem ionen- und elektronenoptischen Auflösungsvermögen der Apparatur ist also nicht durch die Veränderung des Objekts bedingt, sondern durch andere, schon angedeutete Faktoren, die sich prinzipiell beseitigen ließen. Andererseits bedeutet die Feststellung einer Objektänderung durch die Ionenstrahlung, daß die Darstellung der atomaren Struktur mit Lithiumionen (und höchstwahrscheinlich auch mit Protonen) trotz ihrer kurzen Wellenlänge prinzipiell ausgeschlossen ist, zumal hierzu eine etwa 100000fache ionenoptische Vergrößerung und daher eine mindestens 300fach stärkere Bestrahlungsdosis notwendig wird. Auch die geplante Erhöhung der Ionenvoltgeschwindigkeit auf 300000 V[1] dürfte hierauf ohne wesentlichen Einfluß sein.

Das Resultat dieser Untersuchung besteht also darin, daß es zwar gelingt, mit dem Ionenmikroskop übermikroskopische Auflösung zu erreichen, daß es aber nicht möglich ist, Atome mittels Ionenstrahlen abzubilden, da das Objekt durch die Strahlung selbst verändert wird. Durch diese Untersuchung ist also mit relativ geringem Aufwand ein Weg zur Lösung dieser schwierigen Aufgabe als prinzipiell nicht gangbar erkannt. Andere Möglichkeiten bestehen in der Entwicklung *neuartiger* Abbildungsverfahren mit Elektronenstrahlen, da diese, wenigstens nach unseren heutigen Vorstellungen, nicht zu solchen Veränderungen des Objekts führen müssen, die eine Abbildung des atomaren Aufbaus verhindern.

Résumé

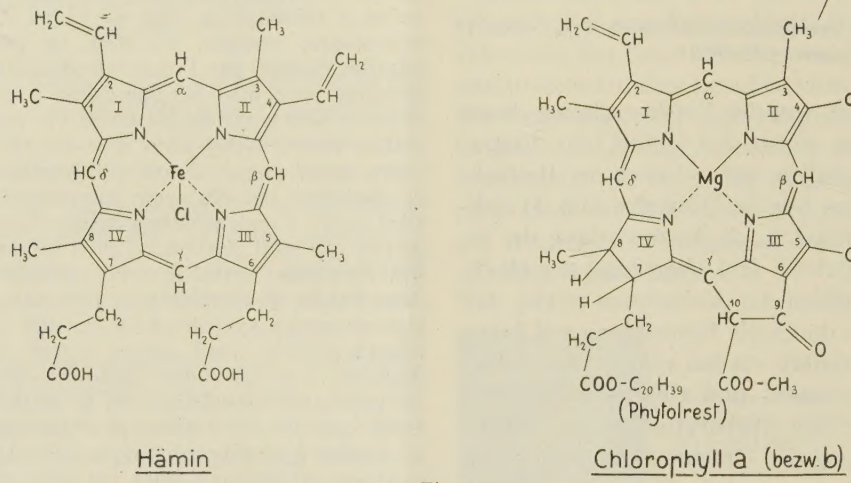
Les méthodes employées à l'heure actuelle en microscopie électronique ne sont pas encore en mesure de rendre perceptibles les atomes. La raison de cet échec réside principalement dans la présence inévitable d'aberrations dans les lentilles. On a été amené dans la suite à chercher d'autres procédés plus appropriés. C'est ainsi qu'on a envisagé la mise au point d'une méthode de microscopie ionique. En effet, on peut déduire de la relation établie par Louis de Broglie que les rayons ioniques, sous des tensions égales à celles couramment utilisées dans le cas des électrons, ont une longueur d'onde suffisamment faible pour pouvoir théoriquement conduire, même avec les lentilles électrostatiques actuelles, à la résolution des distances interatomiques dans la matière solide. Cependant leur masse et par conséquent leur inertie qui sont nettement plus importantes que celles des électrons, entraînent des modifications profondes dans l'objet irradié: celui-ci peut réagir plus ou moins intensivement avec les ions et sous l'influence de leur bombardement peut même subir des arrachements d'atomes. Les essais que l'auteur a effectués dans le but de préciser les conditions de la méthode ionique montrent que les résolutions pratiquement atteintes, sont de l'ordre hypermicroscopique (500 Å). Ainsi les modifications subies par l'objet, au cours de son irradiation, bien que faibles en regard de ces résolutions, excluent en principe la possibilité d'obtenir des images d'objets à l'échelle atomique avec des rayons ioniques. En revanche, on peut espérer que les électrons, malgré leurs effets souvent néfastes, conviendront tout de même au but cherché, mais il sera nécessaire pour cela de trouver de nouveaux procédés techniques. D'où la nécessité de poursuivre plus avant le développement des méthodes de microscopie électronique.

[1] Cl. Magnan in: L. de Broglie, «L'optique électronique», Paris 1946.

Einführung in die Chemie der Hämine

Von ARTHUR STOLL[1], Basel

Die beiden augenfälligsten Farbstoffe der Natur, das Chlorophyll, welches das grüne Kleid der Erde bedingt, und der rote Farbstoff des Blutes, «eines ganz besondern Saftes», sind schon früh bei den Chemikern und Biologen lebhaftem Interesse begegnet. Als einer der ersten hat sich M. NENCKI, dessen 100. Geburtstag wir in diesem Jahre feiern, schon vor mehr als 60 Jahren mit dem Blutfarbstoff beschäftigt und in genialer Weise Pionierarbeit geleistet. Aber nicht nur durch ihre ubiquitäre Verbreitung und ihre fundamentale Bedeutung für die Lebewelt gleichen sich Blattgrün und Blutfarbstoff; im Grundskelett ihres chemischen Aufbaus zeigen sie eine weitgehende Ähnlichkeit.



Hämin Chlorophyll a (bezw. b)

Fig. 1.

In einem Beitrag zur Festschrift zu Ehren von Prof. W. LÖFFLER[2] in Zürich «Über die Verwandtschaft des Blutfarbstoffes mit dem Blattgrün» sind die Parallelen und die Verschiedenheiten sowohl im chemischen Bau der Moleküle wie in funktioneller Hinsicht umschrieben worden. Die Verwandtschaft bezieht sich nicht nur auf das Grundskelett der beiden Farbstoffe, sondern auch auf die Form, in der sie in der Natur vorkommen. Beide sind an hochmolekulare Eiweißstoffe gebunden, sind also Bestandteile sogenannter *Chromoproteide*. Die funktionelle Verschiedenheit beruht im wesentlichen darauf, daß das *Hämin* bzw. seine Derivate in allen ihren Formen, in denen sie in der Natur vorkommen, durch ihr komplex gebundenes Eisen *oxydativen* Vorgängen dienen, während das *Chlorophyll* durch sein komplex gebundenes Magnesium — vielleicht als prosthetische Gruppe eines assimilatorischen Ferments — unter dem Einfluß des Lichtes der *Reduktion* der atmosphärischen Kohlensäure zur Kohlehydratstufe dient.

Die Konstitution des Hämins ist heute bekannt und durch die Totalsynthese bewiesen. Die Totalsynthese des Chlorophylls steht noch aus; es bestehen aber in bezug auf seine Konstitution kaum noch Unsicherheiten.

Der chemische Bau des Hämins, wie er in Fig. 1 links, auf eine Ebene projiziert, dargestellt ist, weist im Gegensatz zu vielen höhermolekularen Naturstoffen, die aus aneinandergereihten Bausteinen Ketten bilden, eine beachtenswerte Symmetrie auf. Ein zentral gelegenes, komplex gebundenes Eisenatom ist von einem 16gliedrigen, heterozyklischen Ringsystem umschlossen. 4 substituierte Pyrrolkerne sind in symmetrischer Weise durch 4 Methinbrücken miteinander verbunden und bilden den sogenannten Porphinkern. Die 8 β-Stellungen der Pyrrolkerne sind durchwegs substituiert, die 1,3,5- und 8-Stellung durch Methylgruppen, die 2- und 4-Stellung durch Vinylreste und die einander benachbarten 6- und 7-Stellungen durch je einen Propionsäurerest. Es kommt auf diese Weise ein außerordentlich schönes Formelbild zustande.

Die in der Fig. 1, rechts, abgebildete Konstitutionsformel des Blattgrüns, das übrigens aus 2 Komponenten, Chlorophyll a und Chlorophyll b, besteht, weist

[1] Vortrag, gehalten am 31. August in Genf auf Einladung der Schweizerischen Medizinisch-Biologischen Gesellschaft. Herrn Dr. E. WIEDEMANN sei für seine Mitwirkung bei der Bearbeitung der umfangreichen Literatur bestens gedankt.

[2] A. STOLL und E. WIEDEMANN, Schweiz. med. Wschr. 77, 664 (1947).

n bezug auf den 16gliedrigen Porphinring eine ähnliche Symmetrie auf, die jedoch durch Verschiedenheiten der Substituenten in der Peripherie vom regelmäßigen Bau des Hämins stark abweicht. Der Propionsäurerest an C_7 ist mit dem hochmolekularen Alkohol Phytol verestert. Der Propionsäurerest an C_6 hat unter Oxydation zu einem Azetessigester einen isozyklischen Seitenring gebildet. Nur C_2 trägt eine Vinylgruppe. Die Seitenkette an C_4 ist der gesättigte Äthylenthält. Es ist mit 2 Hauptvalenzen und 2 Nebenvalenzen an die Stickstoffatome des Porphinkerns gebunden und bindet mit einer dritten Hauptvalenz ein Chloratom. Hämin ist eigentlich ein Kunstprodukt, das bei der hydrolytischen Spaltung des Hämoglobins durch warmen Eisessig in Gegenwart von Chlorionen entsteht. Es kann in präparativem Maßstab aus Rinderblut, oder mit Vorteil aus dem Blutkörperchenbrei des Pferdeblutes nach den in den Grundzügen von

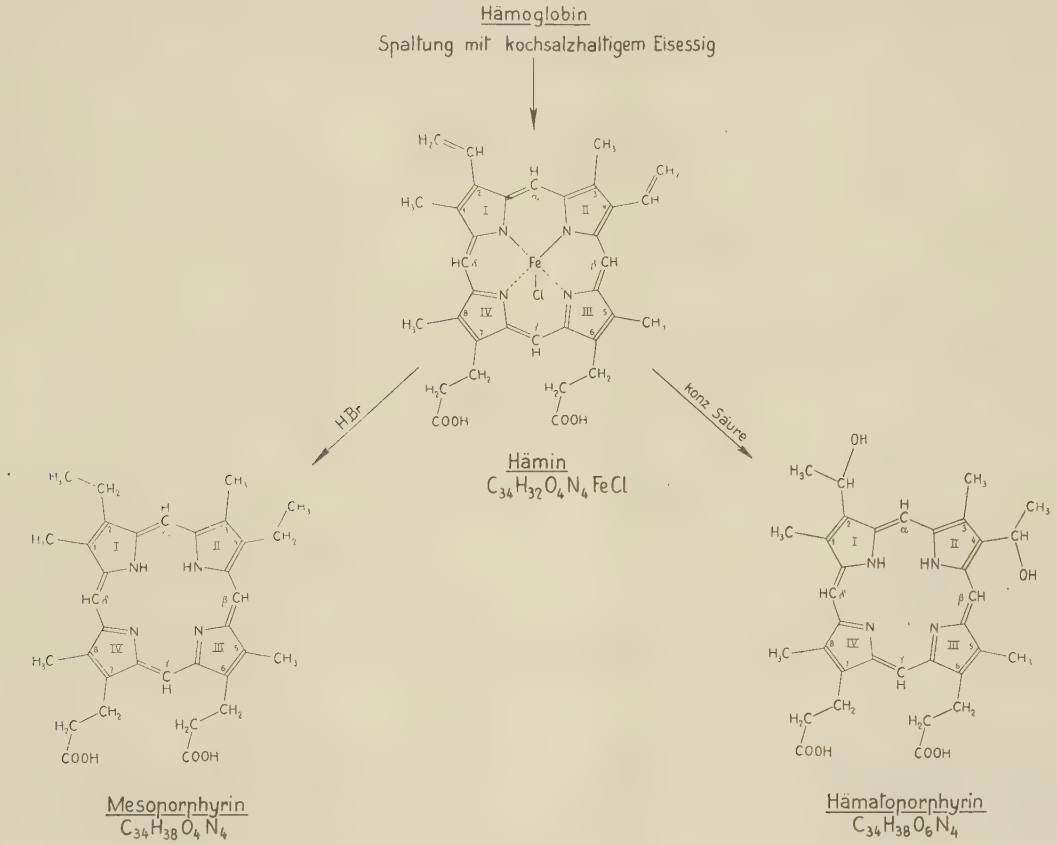


Fig. 2.

rest. Im Chlorophyll b ist die Methylgruppe an C_3 des Chlorophylls a durch eine Aldehydgruppe ersetzt. Als charakteristischer Unterschied gegenüber Hämin ist noch hervorzuheben, daß beim Blattgrün sehr wahrscheinlich der Ring 4 durch 2 Wasserstoffatome teilweise hydriert ist, ein Umstand, der zur grünen Farbe des Chlorophylls und seiner Derivate beiträgt. Der Hydrierungsgrad des Hämins und seiner Porphyrine, wie man die eisenfreien Abkömmlinge des Hämins nennt, ist — im Gegensatz zum Chlorophyll — der niedrigst mögliche, d.h. der eines aromatischen Systems. Die durchlaufende Konjugation der Doppelbindungen, also der aromatische Charakter, ist für die relativ große Stabilität dieser Verbindungen verantwortlich; sie bedingt auch die intensive Farbe und die charakteristischen Absorptionsspektren.

Unter Hämin versteht der Chemiker die in Fig. 1 aufgezeichnete Substanz, die das Eisenatom dreiwertig

M. Nencki und N. Sieber[1], von F. Hoppe-Seyler[2] oder von M. Schalfejeff[3] angegebenen Verfahren bereitet werden. Die ersten Häminkristalle wurden bekanntlich von L. Teichmann[4] vor bald 100 Jahren beschrieben.

Die blauviolett schillernden Kristalle des leicht zugänglichen Hämins haben als Ausgangsmaterial für zahlreiche chemische Umsetzungen gedient. M. Nencki und N. Sieber[1] beschrieben die Bildung von *Hämatin* aus Hämin, wobei das am Eisenatom stehende Chloratom durch Hydroxyl ersetzt wird und bestätigten die von F. Hoppe-Seyler[2] aufgefundene Darstellung von *Hämatoporphyrin* (Fig. 2) aus Hämin durch die Behandlung mit konzentrierter Salzsäure, wobei das

[1] M. Nencki und N. Sieber, Ber. dtsch. chem. Ges. *17*, 2267 (1884).

[2] F. Hoppe-Seyler, Ber. dtsch. chem. Ges. *18*, 603 (1885).

[3] M. Schalfejeff, Le physiologiste russe *1*, 15 (1898).

[4] L. Teichmann, Z. rat. Med. (N.F.) *3*, 375 (1853); *8*, 141 (1857).

komplex gebundene Eisenatom entfernt und an den beiden Stickstoffatomen durch Wasserstoff ersetzt wird. Gleichzeitig treten an den beiden ungesättigten Seitenketten 2 Moleküle Wasser ein. Etwas später gelang M. Nencki und J. Zaleski[1] die Reduktion des Hämins zum *Mesoporphyrin* (Fig. 2). Der für die Reduktion verwendete Bromwasserstoff entfernt nicht nur das komplex gebundene Eisenatom, er sättigt auch die beiden Doppelbindungen der Seitenketten ab.

Diese Umsetzungen erfolgen unter Erhaltung des 16gliedrigen Porphinrings. Über dessen Bausteine gab einerseits die reduktive, anderseits die oxydative Aufspaltung des Rings Aufschluß. Dieser Abbau, der von M. Nencki und J. Zaleski[1] eingeleitet und von O. Piloty[2] und seinen Schülern sowie von W. Küster[3] und von L. Marchlewski[4] fortgesetzt wurde, führte einerseits zu substituierten Pyrrolen, anderseits zu Abkömmlingen des Methyl-äthyl-maleinimids. Seit 1911 wurden die Abbauprodukte auch von R. Willstätter[5] sowie von H. Fischer[6] und von W. Küster[7] näher untersucht.

Durch energischen reduktiven Abbau von Hämin mit Jodwasserstoff erhielt O. Piloty[8] ein Gemisch von Pyrrolbasen, aus dem 4 verschieden substituierte Pyrrole: *Hämopyrrol, Phyllopyrrol, Kryptopyrrol* und *Opsopyrrol* isoliert worden sind[5, 6, 8, 9]; sie sind in Fig. 3 aufgezeichnet. O. Piloty[2] beobachtete neben diesen Basen auch die entsprechenden Monocarbonsäuren, nämlich Hämopyrrol-, Phyllopyrrol-, Kryptopyrrol- und Opsopyrrol-carbonsäure, die anstelle der β-Äthylgruppe einen Propionsäurerest tragen. Diese Säuren wurden später von H. Fischer und seinen Mitarbeitern in reinem Zustande dargestellt[6, 9].

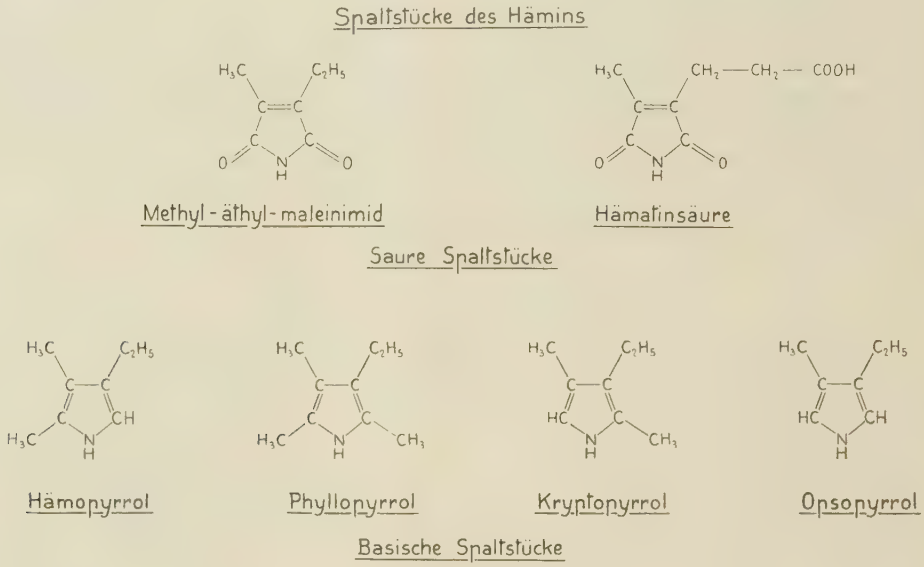


Fig. 3.

Durch Oxydation des Hämins und seiner Derivate, z. B. mit Chromsäure, erhielt zuerst W. Küster[10] Derivate des Maleinimids, die als *Methyl-äthyl-maleinimid* und *Hämatinsäureimid* identifiziert worden sind[11] (siehe obere Hälfte der Fig. 3).

Auf Grund der genaueren Kenntnis der Spaltstücke und der Elementaranalyse des Hämins war es W. Kü-

[1] M. Nencki und J. Zaleski, Ber. dtsch. chem. Ges. *34*, 997 (1901).

[2] O. Piloty, Liebigs Ann. Chem. *366*, 237 (1909). – O. Piloty und S. Merzbacher, Ber. dtsch. chem. Ges. *42*, 3253, 3258 (1909). – O. Piloty und E. Quitmann, Ber. dtsch. chem. Ges. *42*, 4693 (1909).

[3] W. Küster, Liebigs Ann. Chem. *315*, 174 (1901). – W. Küster, in: Abderhaldens Hb. d. biol. Arbeitsmethoden, Abt. I, Teil 8, S. 201ff.

[4] L. Marchlewski, J. prakt. Chem. (2) *65*, 165 (1902).

[5] R. Willstätter und Y. Asahina, Ber. dtsch. chem. Ges. *44*, 3707 (1911); Liebigs Ann. Chem. *385*, 188 (1912).

[6] H. Fischer, Z. physiol. Chem. *73*, 204 (1911); Ber. dtsch. chem. Ges. *46*, 1575 (1913). – H. Fischer und R. Meyer-Betz, Z. physiol. Chem. *75*, 240 (1911); *82*, 101 (1912). – H. Fischer und E. Bartholomäus, Ber. dtsch. chem. Ges. *44*, 3313 (1911); *45*, 466 (1912); *45*, 1922, 1979 (1912); *46*, 512 (1913); Z. physiol. Chem. *77*, 185 (1912); *78*, 420 (1912); *80*, 6 (1912); *83*, 50 (1913); *84*, 279 (1913). – H. Fischer und F. Krollpfeifer, Z. physiol. Chem. *82*, 266 (1912). – H. Fischer und H. Röse, Ber. dtsch. chem. Ges. *45*, 3274 (1912); Z. physiol. Chem. *87*, 39 (1913); *91*, 190 (1914). – H. Fischer und K. Eismeyer, Ber. dtsch. chem. Ges. *47*, 1820 (1914).

[7] W. Küster, Ber. dtsch. chem. Ges. *45*, 1945 (1912). – W. Küster und P. Deihle, Z. physiol. Chem. *82*, 463 (1913).

[8] O. Piloty und S. J. Tannhauser, Liebigs Ann. Chem. *390*, 191 (1912). – O. Piloty und J. Stock, Liebigs Ann. Chem. *392*, 215 (1912); Ber. dtsch. chem. Ges. *46*, 1008 (1913). – O. Piloty und A. Blömer, Ber. dtsch. chem. Ges. *45*, 3749 (1912). – O. Piloty und K. Wilke, Ber. dtsch. chem. Ges. *46*, 1598 (1913). – O. Piloty und E. Dormann, Liebigs Ann. Chem. *388*, 314 (1912); Ber. dtsch. chem. Ges. *46*, 1007 (1913); *47*, 402 (1914). – O. Piloty, J. Stock und E. Dormann, Ber. dtsch. chem. Ges. *47*, 400 (1914).

[9] Vgl. auch: H. Fischer und A. Treibs, Liebigs Ann. Chem. 450, 143 (1926).

[10] W. Küster in: Abderhaldens Hb. d. biol. Arbeitsmethoden, Abt. I, Teil 8, S. 251.

[11] W. Küster und K. Haas, Liebigs Ann. Chem. *345*, 10 (1905). – W. Küster und J. Weller, Z. physiol. Chem. *99*, 253 (1917).

ster[1] schon 1912/13 möglich, für das Hämin eine in allen wesentlichen Teilen richtige Konstitutionsformel aufzustellen, die Ende der zwanziger Jahre von H. Fischer[2] durch die Totalsynthese des Hämins bestätigt wurde.

Der totale Aufbau des Hämins aus seinen Bausteinen gehört zu den großartigsten Leistungen organischer Synthese. Dutzende von Chemikern arbeiteten unter der genialen Leitung von H. Fischer allein schon an der Herstellung der schwer zugänglichen substituierten Pyrrole, die als Bestandteile für die Kondensation zum 16gliedrigen Porphinring dienen mußten. Bei der Kompliziertheit der Moleküle ist die Bildung einer großen Zahl von Isomeren möglich, z. B. schon im Hinblick auf die Reihenfolge der β-Substituenten der 4 Pyrrolkerne. So sind durch Vertauschen dieser β-Substituenten 15 Isomere des Hämins möglich, wenn auch ein Teil davon auf Grund der Ergebnisse des reduktiven und oxydativen Abbaus auszuschließen war.

Die Feststellung der Anordnung der β-Substituenten gelang H. Fischer und seinen Schülern an dem leichteren Beispiel der Synthese des Mesoporphyrins[3], bei dem die Seitenketten in 2- und 4-Stellung nicht als Vinylreste wie im Hämin, sondern als Äthylgruppen vorhanden sind. Von den 15 möglichen Isomeren Mesoporphyrinen war es nach der Bezeichnung von H. Fischer Nr. IX, das sich mit dem aus Blutfarbstoff gewonnenen Mesoporphyrin als identisch erwies. Auf die Kautelen, die bei einer solchen Identifizierung zu beachten sind, soll hier nicht eingegangen werden, dagegen sei die *Totalsynthese des Hämins* in ihren wichtigsten Etappen anhand der Fig. 4 demonstriert.

Es wurde bereits darauf hingewiesen, welcher Anstrengung es bedurfte, um die verschieden substituierten Pyrrole als Ausgangsmaterial für die Konstruktion des 16gliedrigen Porphinrings herzustellen. Die Behandlung dieses schwie-

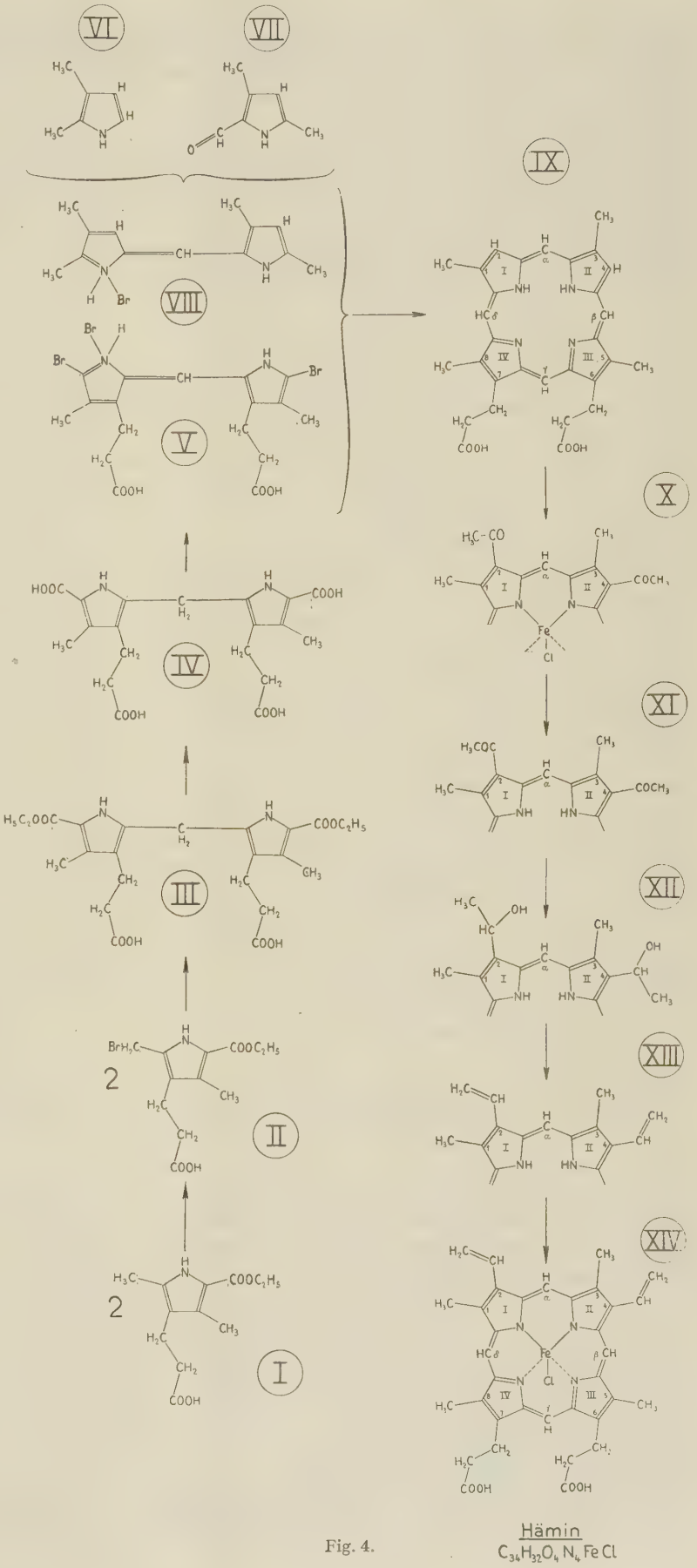


Fig. 4.

[1] W. Küster, Ber. dtsch. chem. Ges. *45*, 1945 (1912). – W. Küster und P. Deihle, Z. physiol. Chem. *82*, 463 (1913).

[2] H. Fischer und K. Zeile, Liebigs Ann. Chem. *468*, 98 (1929). – H. Fischer, Naturw. *17*, 11 (1929); Nobelvortrag 1930.

[3] H. Fischer und G. Stangler, Liebigs Ann. Chem. *459*, 64 (1927).

rigen Teils der Pyrrolchemie würde zu weit vom Thema wegführen; dagegen seien die Verknüpfung der substituierten Pyrrole zum Porphinsystem und dessen Umwandlungen zum Hämin eingehender dargestellt.

Eine dieser Ausgangssubstanzen ist die an sich schon recht komplizierte α-Carbäthoxy-kryptopyrrol-carbonsäure (I). Durch Bromierung wird die Methylgruppe in 2-Stellung in das α'-Brommethylderivat (II) verwandelt, von dem sich beim Verkochen mit Wasser 2 Moleküle zum Dipyrryl-methan (III) kondensieren. Die Verseifung dieses Dipyrrylmethans liefert intermediär die α-α'-Dicarbonsäure (IV), die bei der nachfolgenden Bromierung in das 3,3'-Dipropionsäure-4,4'-dimethyl-5,5'-dibrom-dipyrryl-methen bzw. sein Hydrobromid (V) verwandelt wird. Damit ist die eine Hälfte des Ringsystems für die Schlußkondensation vorbereitet.

Die Synthese der anderen Ringhälfte ist einfacher. Man geht nämlich von 2 relativ einfachen, aber unter sich verschiedenen Bausteinen aus, nämlich vom 2,3-Dimethylpyrrol (VI) und vom 2-Aldehyd-3,5-dimethylpyrrol (VII), die man zum 3,5,4',5'-Tetramethyldipyrrylmethen bzw. dessen Hydrobromid (VIII) kondensiert. Damit sind bereits je 2 substituierte Pyrrole durch Methinbrücken miteinander verbunden. Die Bromatome der Substanz V reagieren bei der nächstfolgenden Kondensation mit dem Wasserstoff der α-ständigen Methylgruppen der Substanz VIII und es schließt sich unter Bildung von 2 neuen Methinbrücken in β- und δ-Stellung der 16gliedrige Ring zum *Deuteroporphyrin* (IX). Zur Vervollständigung der Substituenten an der Peripherie des Moleküls, wie sie im Hämin vorliegen, müssen die Stellungen 2 und 4 noch substituiert werden. Nun wird das Eisenkomplexsalz des Deuteroporphyrins hergestellt und dieses mit Essigsäureanhydrid in 2- und 4-Stellung acetyliert. Das 2,4-Diacetyl-deuterohämin (X) liefert nach dem Zerlegen des Eisenkomplexsalzes das 2,4-Diacetyl-deutero-porphyrin (XI).

Nun erfolgt die Reduktion der Acetylgruppen mit alkoholischem Kali zu sekundären Alkoholgruppen, wobei das dem Hämin bereits sehr nahestehende Hämatoporphyrin (XII) entsteht. Beim Erhitzen im Hochvakuum spalten seine Seitenketten 2 Moleküle Wasser ab. Es entstehen die für Hämin charakteristischen ungesättigten Vinylgruppen in 2- und 4-Stellung. Die Synthese des Protoporphyrins (XIII) ist damit erreicht. Durch Einführung des Eisens in Protoporphyrin bei Gegenwart von Kochsalz entsteht das Hämin (XIV). Die Häminsynthese ist um so bewundernswerter, als viele Umsetzungen dieser langen Reihe mit Ausbeuten von nur wenigen Prozenten verlaufen und einzelne davon mit nur sehr geringen Substanzmengen, z.B. 10 mg, durchgeführt werden können.

Die durch Totalsynthese bewiesene Konstitutionsformel des Hämins bildet die Grundlage für die nachfolgenden Ausführungen. Bevor wir indessen auf die Funktionen des Hämins bzw. seiner Derivate als prosthetische Gruppen von Chromoproteiden übergehen, seien noch einige Derivate des Hämins, die als solche isoliert worden sind, erwähnt. Der dem Hämin unmittelbar zugrunde liegende eisenfreie Farbstoff, das Protoporphyrin, ist aus ganz verschiedenen natürlichen Ausgangsmaterialien isoliert worden. E. Derrien[1] isolierte es aus der Harderschen Drüse der Nagetiere, H. Fischer[2] aus zahlreichen Pflanzen. Auch der rote Farbstoff gefleckter Eierschalen, z.B. der Möwen und Kiebitze, ist nach H. Fischer und F. Kögl[3] Protoporphyrin.

Nach Magenblutungen und nach Blutgenuß läßt sich in den Faeces *Deuteroporphyrin* nachweisen[4]. Die Bildung dieses Farbstoffes im Verdauungskanal zeigt, daß der biologische Abbau der prosthetischen Gruppe des Hämoglobins neben der Abspaltung des Eisens zunächst die ungesättigten Seitenketten erfaßt.

Von medizinischer Bedeutung ist das Auftreten der *Koproporphyrine* und der *Uroporphyrine*, die sich vom Hämin, wie Fig. 5 zeigt, dadurch unterscheiden, daß sie statt nur 2 Carboxylgruppen deren 4, ja sogar 8 tragen. Blei- und Sulfonalvergiftungen können zur Ausscheidung von Koproporphyrin III führen[5]. Es ist die dem Protoporphyrin entsprechende 2,4,6,7-Tetrapropionsäure. Sie wird in allen Fällen von toxischer Porphyrie gefunden, während bei kongenitaler Porphyrie ein Isomeres des Koproporphyrins III, das Koproporphyrin I ausgeschieden wird[6]. Die beiden Koproporphyrine unterscheiden sich durch die vertauschte Stellung der Methyl- und der Propionsäuregruppen in den Stellungen 7 und 8 des Ringes IV. Koproporphyrin I scheint im Knochenmark gebildet zu werden[7]. In kleinen Mengen tritt es auch bei perniziöser Anämie, Nierenerkrankungen, Leberzirrhose und hämolytischem Ikterus auf[8]. Spuren davon finden sich in normalen Ausscheidungsprodukten: Faeces[9],

[1] E. Derrien, C. R. Soc. Biol. *91*, 634 (1924).

[2] H. Fischer und H. Hilmer, Z. physiol. Chem. *153*, 167 (1926). – Vgl. auch: H. Fischer und F. Schwerdtel, Z. physiol. Chem. *159*, 120 (1926) sowie: O. Schumm, Z. physiol. Chem. *152*, 147 (1926); *154*, 171 (1926).

[3] H. Fischer und F. Kögl, Z. physiol. Chem. *131*, 241 (1923); *138*, 270 (1924).

[4] O. Schumm, Z. physiol. Chem. *144*, 272 (1925); *147*, 288 (1925); *149*, 111 (1925); *152*, 8 (1926); *153*, 246 (1926); *159*, 194 (1926); *169*, 3 (1927).

[5] H. Fischer und W. Zerweck, Z. physiol. Chem. *130*, 317 (1923); *137*, 184 (1924). – H. Fischer und R. Duesberg, Arch. exp. Pathol. Pharmakol. *166*, 96 (1932).

[6] H. Fischer, Erg. Physiol. *15*, 185 (1916). – Abderhaldens Hb. d. biol. Arbeitsmethoden, Abt. I, Teil 11, S. 197. – H. Fischer und H. Helberger, Liebigs Ann. Chem. *480*, 254 (1930).

[7] H. Fischer, H. Hilmer, F. Lindner und B. Pützer, Z. physiol. Chem. *150*, 53 (1925). – Vgl. auch die vorhergehende Fußnote.

[8] C. J. Watson, J. clin. Invest. *14*, 106 (1935). – J. Waldenström, Acta med. Scand. *83*, 281 (1934); Dtsch. Arch. klin. Med. *178*, 38 (1935); Z. physiol. Chem. *239*, 111 (1936). – J. Waldenström, H. Fink und W. Hoerburger, Z. physiol. Chem. *233*, 1 (1935).

[9] H. Fischer und K. Schneller, Z. physiol. Chem. *135*, 290 (1924). – H. Fischer, Ber. dtsch. chem. Ges. *60*, 2628 (1927). – R. Fikentscher, Klin. Wschr. *14*, 571 (1935).

Harn[1], Meconium[2], ferner neben Protoporphyrin im Speichel und in den Talgdrüsen[3]. Koproporphyrin I ist ferner ein normaler Bestandteil der Hefe[4]. Die Struktur der beiden Koproporphyrine, wie sie das Bild zeigt, ist durch Synthese bewiesen[5]. Den beiden Koproporphyrinen I und III entsprechen 2 isomere Säuren mit 8 Carboxylgruppen, die als Uroporphyrine[6] bezeichnet worden sind. Die 8 Carboxyle sind auf alle 8 β-Stellungen des Porphinkerns verteilt, so daß sie als Tetraessigsäure-tetra-propionsäure-porphyrine zu bezeichnen sind[7].

Die erwähnten Abkömmlinge des Hämins zeigen eine lichtsensibilisierende Wirkung, die beim Hämatoporphyrin besonders ausgeprägt ist[1].

Die bis jetzt besprochenen Derivate des Hämins, die als freie Farbstoffe in der Natur angetroffen werden, sind nicht die Substanzen, die in *funktioneller Hinsicht* den Biologen interessieren. Vielmehr sind es *Chromoproteide*, die wichtige Oxydationsvorgänge katalytisch einleiten und beschleunigen, also spezifische Eiweißkörper, die eisenhaltige Derivate des Hämins als prosthetische Gruppen tragen. Biologen und Mediziner ver-

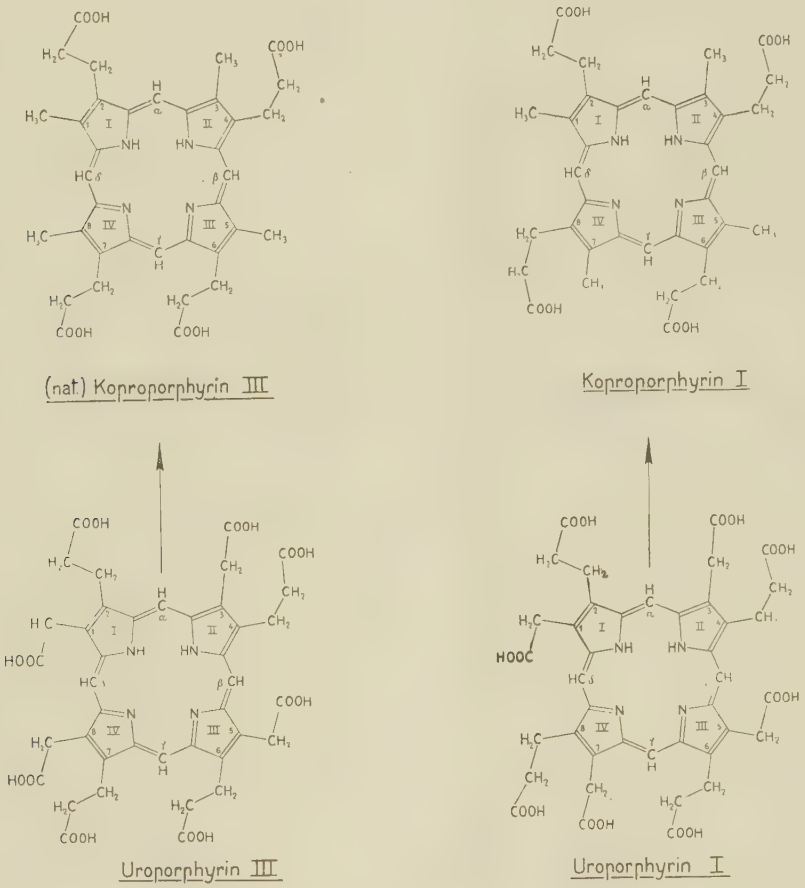


Fig. 5.

stehen unter «Häminen» vielfach Chromoproteide der Derivate des Hämins, also Farbstoff + Eiweiß. Weniger mißverständlich wäre es, diese Verbindungen als *Häminproteide* zu bezeichnen, wie es Hugo Theorell[2] tut, oder sie in Analogie zu Hämoglobin *Hämoproteide* zu nennen.

Vom funktionellen Gesichtspunkt aus betrachtet, hat das komplizierte Gerüst des Porphinkerns die Bedeutung eines Trägers von aktiviertem Eisen. Wie kein

[1] H. Fink, Naturw. *22*, 292 (1934). – H. Fischer, Verh. dtsch. Ges. inn. Med. *45*, 21 (1933). – H. Kämmerer, Verh. dtsch. Ges. inn. Med. *45*, 30 (1933).

[2] J. Waldenström, Z. physiol. Chem. *239*, 4 (1936).

[3] A. A. Hijmans van den Bergh, Vers. Akad. Wetensch. Amsterdam, Wiss. nat. Afd. *36*, 1096 (1927); Dtsch. med. Wschr. *36*, 1492 (1928). – E. Derrien, C. R. Soc. Biol. *8*, 135 (1926). – A. Garrod, Quart. J. Med. *19*, 357 (1925/26). – S. Bommer, Klin. Wschr. *6*, 1142 (1927).

[4] H. Fischer und H. Fink, Z. physiol. Chem. *140*, 57 (1924); *150*, 243 (1925).

[5] Koproporphyrin I: H. Fischer und H. Andersag, Liebigs Ann. Chem. *458*, 117 (1927); Koproporphyrin III: J. Hierneis, Diss. München 1930.

[6] H. Fischer, Z. physiol. Chem. *95*, 34 (1915); *96*, 148 (1915); *96*, 309 (1915); *97*, 109, 148 (1916); *98*, 14, 78 (1916).

[7] Vgl. H. Fischer und H. Orth, Die Chemie des Pyrrols, Bd. II, 1. Hälfte, S. 512 und 517. Leipzig 1937.

[1] W. Hausmann, Wiener klin. Wschr., Jg. 1909, S. 1620. – W. Hausmann und M. Spiegel-Adolf, Klin. Wschr. *6*, 2128 (1927). – W. Hausmann, Strahlentherapie *28*, 81 (1928). – H. Fischer und F. Meyer-Betz, Arch. klin. Med. *112*, 476 (1929).

[2] H. Theorell, Erg. Enzymforschung *9*, 231 (1943).

anderes Element vereinigt das Eisen Eigenschaften, die es als Katalysator für Oxydationsprozesse geeignet machen. Nicht nur besitzt es eine hohe Affinität zu Sauerstoff, es kann durch Übergang von der 3- in die 2wertige Form und umgekehrt selbst in Oxydationsprozesse eingreifen und sich andererseits als komplexbildendes Element durch Partialvalenzen, oder, wie man sich heute vielfach ausdrückt, durch Aufnahme von Elektronenpaaren aus basischen Gruppen des Porphinkerns oder von Proteinen verbinden. Die Reaktionen, die durch die Hämoproteide katalytisch beschleunigt werden, spielen sich deshalb am Eisen ab. H. Theorell hat den Wirkungsmechanismus der Hämoproteide in seinem Berner Vortrag 1943[1] auf die einfachste Weise präzisiert, indem er schreibt:

«Die Häminproteide können auf drei prinzipiell verschiedene Arten reagieren.

1. Das Eisen bleibt bei der physiologischen Funktion zweiwertig. Beispiel: die reversible Gasanlagerung beim Hämoglobin oder Myoglobin. $Fe^{++} + O_2 \rightleftarrows Fe^{++}O_2$.

2. Das Eisen schwingt physiologisch zwischen zwei- und dreiwertig, so daß ein Elektron immer wieder aufgenommen und nach anderer Seite hin weitergegeben wird. Beispiel: Cytochrom c: $Fe^{+++} + e \rightleftarrows Fe^{++}$.

3. Das Eisen bleibt physiologisch immer dreiwertig. Wasserstoffsuperoxyd wird angelagert und entweder gespalten (Katalasen) oder zu oxydativen Funktionen aktiviert (Peroxydasen).»

Unserer Übersicht sei diese Einteilung zugrunde gelegt und als typisches Beispiel eines Hämoproteids

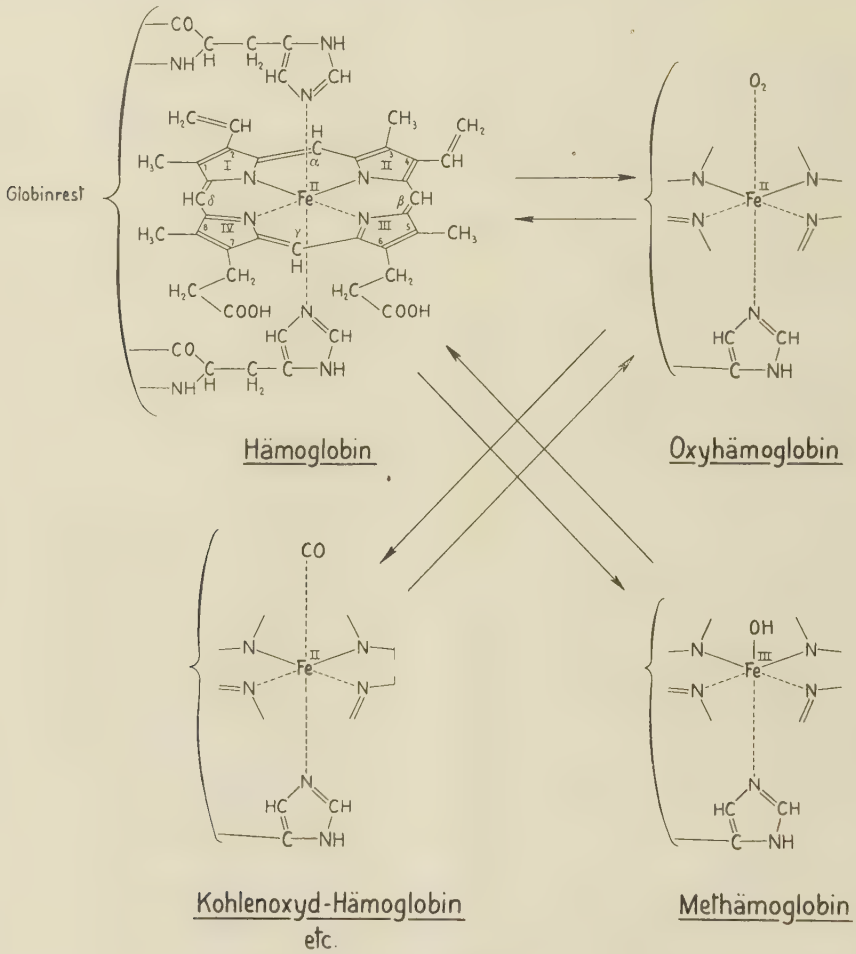


Fig. 6.

mit stets *zweiwertigem* Eisen zunächst das *Hämoglobin* besprochen.

Das Hämoproteid der roten Blutkörperchen ist seit langem in reiner und kristallisierter Form leicht zugänglich. Es hat ein mittleres Teilchengewicht von 68000 und besteht aus 4 gleichen Bruchstücken vom Molekulargewicht 17000, die im Hämoglobin zu einer Scheibe vereinigt sind und von denen jedes ein Eisenatom besitzt[1]. Die Hämoglobine verschiedener Spezies zeigen bekanntlich in ihrer Kristallform Unterschiede, die sich aber chemisch in ihrem Proteinanteil nur

[1] H. Theorell, Konstitution und Wirkung einiger Häminproteide, in: Zur Chemie, Physiologie und Pathologie des Eiweißes. Bern 1944.

[1] Vgl. The Svedberg und Kai O. Pedersen, Die Ultrazentrifuge, S. 320. Leipzig 1940.

venig bemerkbar machen. Sie alle enthalten als prosthetische Gruppe dasselbe chlorfreie Derivat des Hämins, das *Häm*[1]. Nach H. Fischer, A. Treibs und K. Zeile[2] ist dieses Häm der Ferrokomplex des Protoporphyrins. Die sog. Svedberg-Einheit des Hämoglobins vom Molekulargewicht 17000 setzt sich somit aus einem Molekül Häm und einem Molekül Globin zusammen. Die Verbindung der beiden Komponenten erfolgt über zwei Partialvalenzen des zweiwertigen Eisens[3] mit zwei Stickstoffatomen von Imidazolringen zweier Histidinreste, die als wichtige Aminosäuren im Globin eingebaut sind (Fig. 6). Hierüber sowie über die Anordnung der 4 Hämoproteide im Hämoglobin und über die Anlagerung des Sauerstoffs am Eisen hat L. Pauling[4] aufschlußreiche Untersuchungen durchgeführt. Elektromagnetische Messungen haben dabei eine wichtige Rolle gespielt

Dem leicht reversiblen, vom Sauerstoffpartialdruck abhängigen Übergang von Hämoglobin zu Oxyhämoglobin sind die stabileren Verbindungen des Hämoglobins mit *Kohlenoxyd, Cyan, Stickoxyd* usw. gegenüberzustellen. Wie aus Fig. 6 ersichtlich ist, erfolgt die Anlagerung dieser Gase und des Sauerstoffs an das Eisen unter Aufhebung einer Bindung des Metalls mit Imidazolstickstoff. Ihre Absorptionsspektren sind untereinander und dem Spektrum der Hämochromogene ähnlich. In jedem dieser Fälle bleibt das Eisen zweiwertig[5].

Anders verhält es sich bei der Bildung des *Methämoglobins* aus Hämoglobin oder Oxyhämoglobin, da in diesem Fall das Eisen von der zweiwertigen in die dreiwertige Form übergeht[6]. Das Methämoglobin ist daher zur reversiblen Anlagerung von Sauerstoff nicht mehr fähig und unterscheidet sich bekanntlich im Spektrum charakteristisch vom Hämoglobin. Bei der Spaltung des Methämoglobins entsteht neben Globin das Hämatin[7], das am Eisen eine Hydroxylgruppe trägt. Chemisch läßt sich Methämoglobin unter Valenzwechsel des Eisenatoms in Hämoglobin zurückverwandeln[1], da die Bindung des Hydroxyls im Methämoglobin schwächer ist als im Hämatin.

Die Spaltung des Hämoglobins[2] führt — wie Fig. 7 zeigt — einerseits zum Globin, einem Protein von Albumincharakter, und dem leicht oxydablen Häm, das unter Addition von 2 Molekülen einer organischen Base, z. B. Pyridin, reversibel in *Hämochromogen*[3] übergehen kann. Wie im Hämoglobin ist bei den Hämochromogenen ein Molekül der Base durch Cyan, Kohlenoxyd und dergleichen ersetzbar[4]. Die Hämochromogene zeigen wie Oxyhämoglobin charakteristische zweibandige Absorptionsspektren. Im übrigen geht das in ihnen gebundene zweiwertige Eisen, wie beim Hämin, durch Oxydation leicht in den dreiwertigen Zustand über, sofern es eine monovalente, negative Gruppe, z. B. Halogen oder Hydroxyl, binden kann. So entstehen aus Hämen Hämine[5] bzw. Hämatine[6].

[1] Vgl. O. Schumm in: Hirschfeld-Hittmair, Hb. d. allg. Hämatologie, S. 126. Berlin 1932.

[2] R. Hill und F. Holden, Biochem. J. *20*, 1326 (1926).

[3] F. Pregl, Z. physiol. Chem. *44*, 173 (1905). – E. Kalmus, Z. physiol. Chem. *70*, 217 (1910). – R. v. Zeyneck, Z. physiol. Chem. *70*, 224 (1910). – Ch. Dhéré, C. R. Acad. Sci. *79*, 1087 (1916); *97*, 1660 (1927).

[4] M. L. Anson und E. A. Mirsky, J. Physiol. *60*, 50 (1925). – J. gen. Physiol. *12*, 273 (1928). – R. Hill, Proc. Roy. Soc., B, *100*, 419 (1926); *105*, 112 (1929). – J. Roche, Bull. Soc. Chim. biol. *8*, 363 (1926). – O. Warburg und E. Negelein, Bio. Z. *200*, 414 (1928).

[5] H. Fischer, A. Treibs u. K. Zeile, Z. physiol. Ch. *195*, 1 (1931).

[6] H. Fischer, A. Treibs u. K. Zeile, Z. physiol. Ch. *193*, 140 (1930).

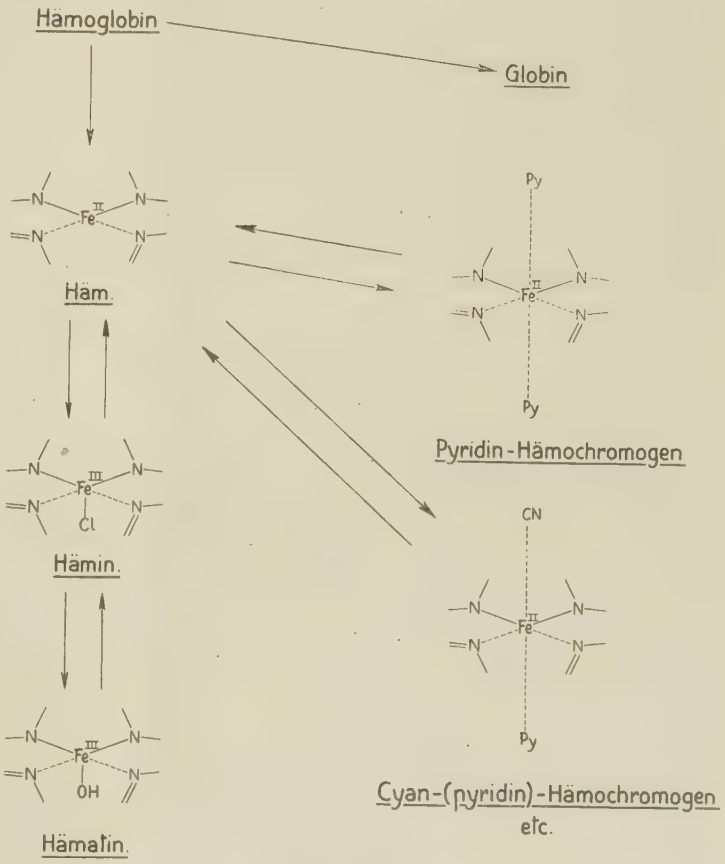


Fig. 7.

[1] D. Keilin, Proc. Roy. Soc. London, B, *98*, 312 (1925). – M. L. Anson und E. A. Mirsky, J. gen. Physiol. *12*, 273 (1928).

[2] H. Fischer, A. Treibs und K. Zeile, Z. physiol. Chem. *195*, 1 (1931).

[3] F. Haurowitz und H. Waelsch, Z. physiol. Chem. *182*, 82 (1929).

[4] L. Pauling und C. D. Coryell, Proc. nat. Acad. Sci. *22*, 210 (1936). – C. D. Coryell, F. Stitt und L. Pauling, J. Am. Soc. *59*, 633 (1937). – Ch. D. Russell und L. Pauling, Proc. nat. Acad. Sci. *25*, 17 (1939). – C. D. Coryell und L. Pauling, J. biol. Chem. *132*, 769 (1940).

[5] J. B. Conant, J. biol. Chem. *57*, 401 (1923).

[6] Vgl. z. B.: J. Barcroft, Die Atmungsfunktion des Blutes. Berlin 1929.

[7] A. Hamsik, Z. physiol. Chem. *186*, 263 (1930).

Der Aufbau des Hämoglobins aus 4 gleichen Hämoproteidmolekülen ist für die Klasse der Säuger, der Vögel und der Fische wahrscheinlich gemacht worden. Bei Amphibien und Reptilien weist das Chromoproteid der roten Blutkörperchen das doppelte oder vierfache Molekulargewicht auf[1], infolge noch größerer Assoziation der Teilmoleküle vom Molekulargewicht 17000.

Es scheint, daß die respiratorischen Chromoproteide um so größere Moleküle aufweisen, je niedriger die Organismen sind. So finden wir bei den Avertebraten die *Erythrocruorine*[2], die *Chlorocruorine*[3] und die *Hämocyanine*[4], die als Assoziationen von Teilmolekülen Teilchengewichte aufweisen, die bis in die Millionen gehen. Es sei beiläufig daran erinnert, daß für das *Chloroplastin*[5], das Chromoproteid grüner Blätter, ähnlich große Teilchengewichte gefunden wurden.

Die prosthetische Gruppe des Erythrocruorins scheint dieselbe zu sein wie im Hämoglobin[6]. Der Ferroporphinkomplex der Chlorocruorine ist von H. Munro Fox[7] entdeckt und dann von O. Warburg[8] aus *Spirographis Spallanzii* isoliert und beschrieben worden. H. Fischer und C. v. Seemann[9] haben gezeigt, daß das *Spirographisporphyrin* sich vom Protoporphyrin des Hämoglobins dadurch unterscheidet, daß es anstelle der Vinylgruppe in 2-Stellung eine Aldehydgruppe aufweist. Die Hämocyanine enthalten bekanntlich anstelle des Eisens komplexgebundenes Kupfer.

Das Chromoproteid des Muskels von Wirbeltieren, das *Myoglobin*[10], ist dem Hämoglobin so ähnlich, daß die beiden lange Zeit für identisch gehalten wurden, um so mehr als das aus ihm hergestellte Hämin sich vom Hämin des Blutfarbstoffes nicht unterscheidet[11]. Die Reindarstellung und Kristallisation des Myoglobins durch H. Theorell[12] hat eine genaue Untersuchung dieses Chromoproteids ermöglicht und die Verschiedenheit von Hämoglobin endgültig festgestellt. Der Eisengehalt, 0,34 bis 0,35%, ist bei beiden derselbe, doch wurde die Sedimentationskonstante des Myoglobins bei der Ultrazentrifugierung niedriger gefunden als jene des Hämoglobins. Sie entsprach nach A. G. Polson[1] einem Molekulargewicht von 17600. Die Affinitätskonstanten des Myoglobins für Sauerstoff und Kohlenoxyd sind von denjenigen des Hämoglobins verschieden. Die beiden Gase werden vom Myoglobin weniger fest gebunden. Kohlenoxydmyoglobin gibt Kohlenoxyd leicht ab und geht dabei in Metamyoglobin[2] über. Der p_H-Stabilitätsbereich des Myoglobins ist größer als der des Hämoglobins.

Während das Eisen im Myoglobin wie im Hämoglobin ausschließlich in der zweiwertigen Form auftritt, so finden wir bei den *Cytochromen*[3] die zweite der möglichen Reaktionsweisen, wobei das Eisen zwischen der zwei- und der dreiwertigen Stufe schwingt. Die Cytochrome lassen sich besonders gut aus Muskeln mit großem Energieumsatz, wie den Herzmuskeln der Vertebraten oder den Brustmuskeln der Insekten, aber auch aus Hefe, wo sie der Zellatmung dienen, isolieren. Sie sind von C. A. McMunn[4] entdeckt und von D. Keilin[5] zuerst untersucht worden und durch sehr charakteristische Absorptionsspektren ausgezeichnet. Die große Bedeutung der Cytochrome erhellt schon aus ihrer ubiquitären Verbreitung in den verschiedensten Organismen von den Bakterien bis zu den Säugetieren[6], wogegen sie den Anaerobiern gänzlich fehlen. Man unterscheidet 3 Gruppen von Cytochromen: die einander sehr ähnlichen Cytochrome a_1 bis a_3, die Cytochrome b_1 und b_2 sowie die Cytochrome c und c_1. Sie unterscheiden sich sowohl spektroskopisch wie in ihren übrigen Eigenschaften voneinander[7]. Während sich die Cytochrome der Gruppe a und b, weil sie in den Geweben fest gebunden sind, noch nicht rein herstellen ließen, gelang es H. Theorell[8] sowie D. Keilin und E. F. Hartree[9] aus Herzmuskeln bzw. Bäckereihefe relativ reine Cytochrom-c-Präparate herzustellen. Etwas später konnten H. Theorell und Å. Åkeson[10] Cytochrom-c-Lösungen mit Hilfe der Elektrophorese noch weiter reinigen und zeigen, daß Cytochrom c 0,43% Eisen enthält. Von K. J. I. Anderson und K. O. Pedersen[11] durchgeführte Ultrazentrifugierungen ergaben zusammen mit von A. G. Polson[1] vorgenommenen Diffusionsmessungen ein Molekulargewicht von 16500. Der aus Eisen- und Schwefelbestim-

[1] The Svedberg und A. Hedenius, Biol. Bull. *66*, 191 (1934).
[2] Ray Lankester, J. anat. Physiol. *2*, 114 (1868). – The Svedberg und I.-B. Eriksson, J. Am. Soc. *55*, 2834 (1933).
[3] Ray Lankester, J. anat. Physiol. *2*, 114 (1868).
[4] Frédéricque, Arch. Zool. *7*, 535 (1878). – The Svedberg und E. Chirnoaga, J. Am. Soc. *50*, 1399 (1928).
[5] A. Stoll und E. Wiedemann, Atti del X⁰ Congr. int. di Chimica V, 206 (1938/39). – A. Stoll, E. Wiedemann und A. Rüegger, Verh. schweiz. naturf. Ges., S. 125, Basel 1941. – A. Stoll und E. Wiedemann, Schweiz. med. Wschr. *77*, 664 (1947).
[6] H. Fischer und A. Kirrmann, Liebigs Ann. Chem. *475*, 273 (1929).
[7] H. Munro Fox, Proc. Cambridge phil. Soc. *1*, 204 (1924); Proc. Roy. Soc. London, B, *99*, 199 (1926).
[8] O. Warburg, Bio. Z. *227*, 171 (1930); *244*, 9 (1932); *244*, 239 (1932).
[9] H. Fischer und C. v. Seemann, Z. physiol. Chem. *242*, 133 (1936); Z. angew. Chem. *49*, 461 (1936).
[10] K. A. H. Mörner, Nord. med. Ark., Festband 1897. – R. P. Kennedy und G. H. Whipple, Am. J. Physiol. *76*, 685 (1926). – O. Schumm, Strahlentherapie *28*, 142 (1928).
[11] K. A. H. Mörner, Nord. med. Ark., Festband 1897.
[12] H. Theorell, Bio. Z. *252*, 1 (1932); *268*, 46, 55, 64, 73 (1934). – H. Theorell und Ch. de Duve, Arch. Biochem. *12*, 113 (1946).

[1] A. G. Polson, Thesis. Stellenbosch 1937.
[2] H. Theorell, Bio. Z. *252*, 1 (1932); *268*, 46, 55, 64, 73 (1934). – H. Theorell und Ch. de Duve, Arch. Biochem. *12*, 113 (1946).
[3] Vgl. D. Keilin, Erg. Enzymforschung *2*, 239 (1933).
[4] C. A. McMunn, Phil. Trans. *177*, 267 (1886); J. Physiol. *8*, 57 (1887); Z. physiol. Chem. *13*, 497 (1889).
[5] D. Keilin, Proc. Roy. Soc. London, B, *98*, 312 (1925).
[6] Vgl. D. Keilin, Erg. Enzymforschung *2*, 239 (1933).
[7] Vgl. H. Theorell, Erg. Enzymforschung *9*, 231 (1943).
[8] H. Theorell, Bio. Z. *285*, 207 (1936).
[9] D. Keilin und E. F. Hartree, Proc. Roy. Soc. London, B, *122*, 298 (1937).
[10] H. Theorell und Å. Åkeson, Science *90*, 67 (1939); Am. chem. Soc. *63*, 1804 (1941).
[11] K. J. I. Anderson und Kai O. Pedersen, unveröffentlicht; erwähnt in: The Svedberg und Kai O. Pedersen, Die Ultrazentrifuge, S. 352. Leipzig 1940.

mungen abgeleitete Wert betrug etwa 13000[1], so daß Cytochrom c wie das Myoglobin ein Atom Eisen im Molekül enthält.

Das konstitutionell Verschiedene am Cytochrom c gegenüber Hämoglobin und Myoglobin ist die verstärkte Bindung des eisenhaltigen Porphinsystems an das Protein. Während im Hämoglobin und Myoglobin die Bindung über Partialvalenzen des Eisens mit Imidazolstickstoff von Histidinresten erfolgt, so existieren im Cytochrom c noch Hauptvalenzbindungen von

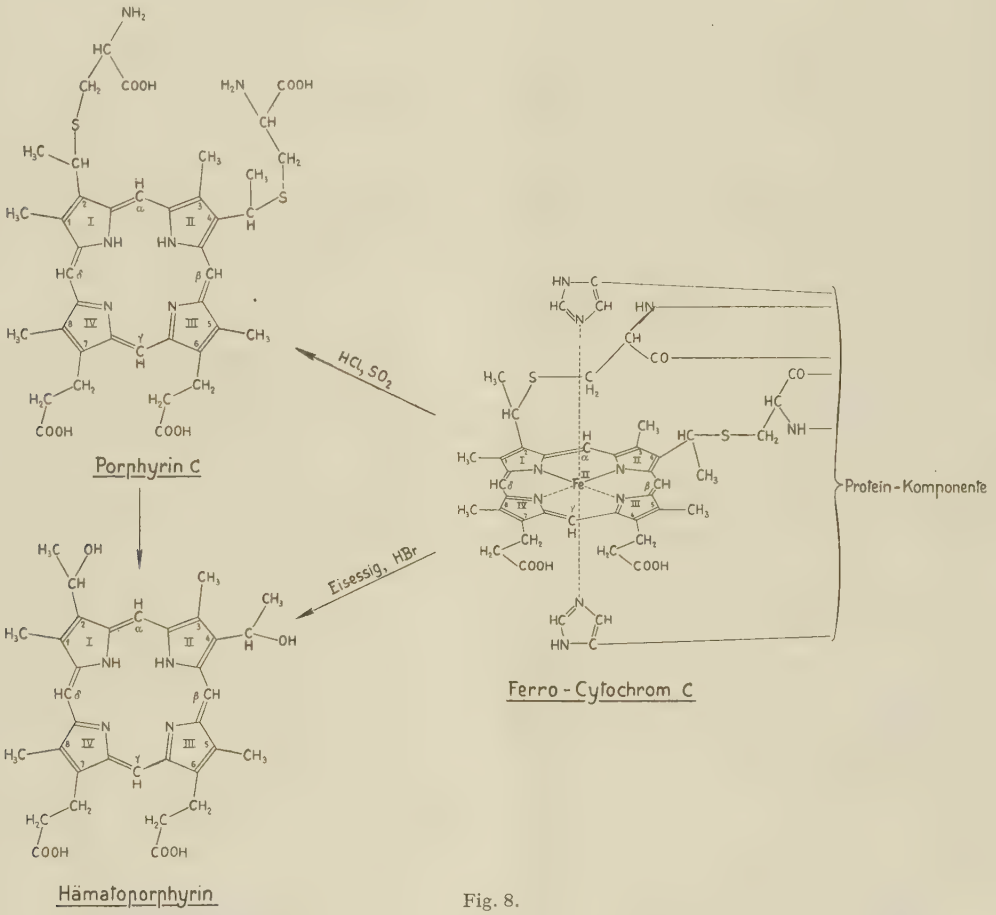


Fig. 8.

Aminosäureresten mit der Peripherie des Porphinrings.

Behandelt man Cytochrom c nach R. Hill und D. Keilin[2] mit in Eisessig gelöster Bromwasserstoffsäure, so erhält man, wie aus Hämoglobin, Hämatoporphyrin (vgl. Fig. 8). Durch eine mildere Behandlung, z. B. mit Salzsäure-Schwefeldioxyd[2] oder verdünnter Schwefelsäure[3], entsteht indessen ein anderes, hydrophiles Porphyrin, das nach H. Theorell[4] bzw. K. Zeile und H. Meyer[3] ein Protoporphyrin ist, in dem in 2- und 4-Stellung nicht Vinylgruppen, sondern cysteintragende Äthylgruppen stehen. Die *Porphyrin c* genannte Substanz ist chemisch als Di-thioäther des Hämatoporphyrins aufzufassen. Diese Formulierung wurde von K. Zeile und Mitarbeitern[1,2] durch synthetische Versuche gestützt, obschon, wohl infolge von Isomerien, zwischen dem natürlichen Porphyrin c und dem aus Protoporphyrin und Cystein synthetisch dargestellten in der optischen Drehung noch Unterschiede bestehen[3].

Eine direkte, feste Verbindung des Proteinrests mit dem Porphinsystem im Cytochrom c erhöht dessen Beständigkeit, die in Anbetracht des Valenzwechsels des Eisens während dessen katalytischen Funktionen notwendig erscheint.

Die Festigkeit des molekularen Gefüges von Cytochrom c äußert sich auch darin, daß es innerhalb des großen p_H-Bereichs von doppelt normaler Salzsäure bis zu normaler Natronlauge stabil bleibt, jedoch unter

[1] H. Theorell, Erg. Enzymforschung *9*, 239 (1943).

[2] R. Hill und D. Keilin, Proc. Roy. Soc. London, B. *107*, 286 (1930).

[3] K. Zeile und H. Meyer, Naturwiss. *27*, 596 (1939); Z. physiol. Chem. *262*, 178 (1939).

[4] H. Theorell, Bio. Z. *298*, 242 (1938).

[1] K. Zeile und H. Meyer, Naturwiss. *27*, 596 (1939); Z. physiol. Chem. *262*, 178 (1939).

[2] K. Zeile, Z. physiol. Chem. *207*, 35 (1932). – K. Zeile und P. Piutti, Z. physiol. Chem. *218*, 52 (1933). – K. Zeile und F. Reuter, Z. physiol. Chem. *221*, 101 (1933). – K. Zeile, Z. physiol. Chem. *236*, 212 (1935).

[3] Vgl. H. Theorell in: Nord-Weidenhagen, Hb. d. Enzymologie, S. 860. Leipzig 1940.

dem Einfluß des p_H, neben einer Ferroform, 5 spektroskopisch verschiedene Ferriformen bildet[1]. Die Ferroform von Cytochrom c bindet wie Hämoglobin[2] unter Lösung einer Bindung des Eisens zum Imidazolstickstoff Sauerstoff oder Kohlenoxyd[3].

Das Auftreten der Formen I bis V des Ferricytochroms c entspricht dem durch die p_H-Änderung bedingten Ladungswechsel der Imidazolstickstoffatome. Starke Säure sättigt die Imidazolstickstoffe gänzlich ab und löst daher ihre Bindungen mit dem Eisen vollauch im Spektrum zeigt es eine weitgehende Ähnlichkeit mit dem Methämoglobin in schwach saurer Lösung. Bei ungefähr neutraler Reaktion, von der auch der p_H-Wert der Gewebe in der Regel nicht allzu weit entfernt ist, entsteht Ferricytochrom III (vgl. Fig. 9); in ihm sind 2 Imidazolreste mit dem Eisen verbunden, der eine über eine Hauptvalenz, der andere über eine Nebenvalenz. Das bei höheren p_H-Werten existenzfähige Ferricytochrom IV unterscheidet sich von III nur durch den Ladungswechsel von mit dem Eisen

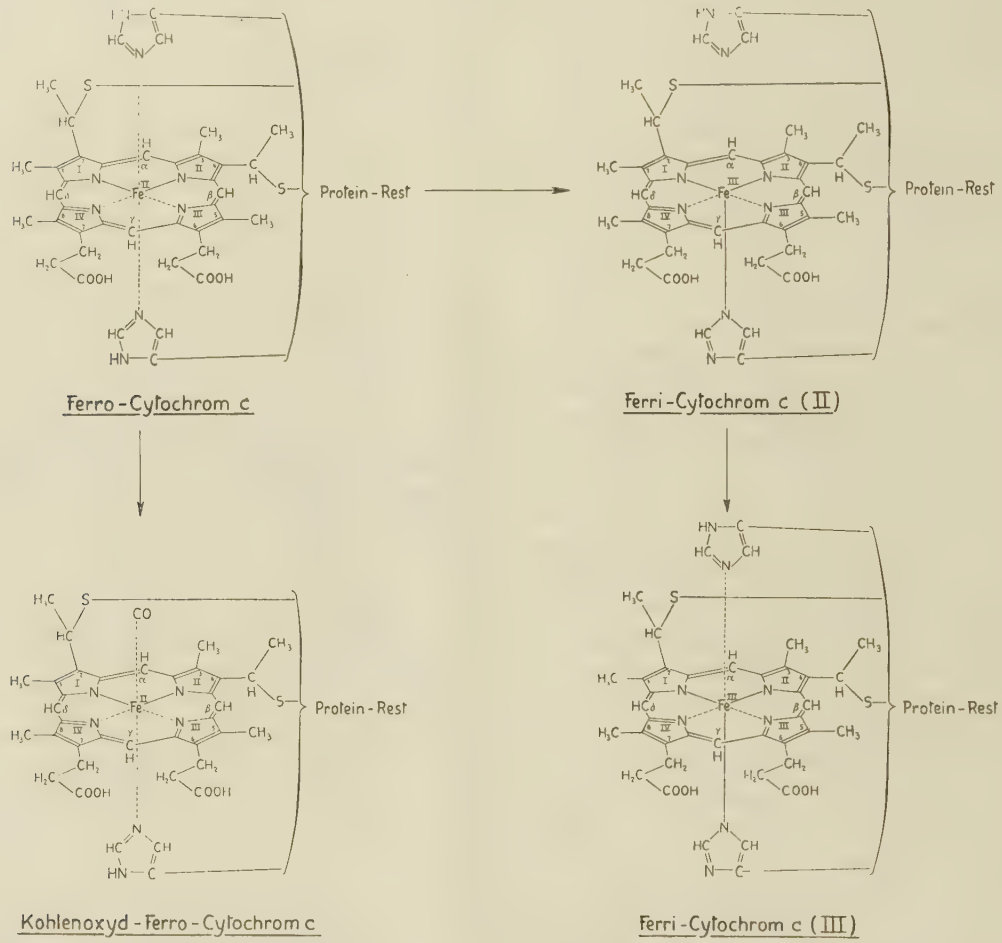


Fig. 9.

ständig, wie das beim Ferricytochrom I der Fall ist[4]. Porphinsystem und Protein sind in ihm nur noch über die Thioätherbrücken miteinander verbunden. Im schwach sauren Bereich bildet sich Ferricytochrom II. In diesem ist, wie im Methämoglobin[5], ein Imidazolrest an das zentrale Eisenatom gebunden[6] (vgl. Fig. 9); nicht verbundenen Imidazolresten[1], während im Ferricytochrom V, das sich in stark alkalischem Milieu bildet, eine der Bindungen des Eisens mit Imidazolstickstoff wieder gelöst ist und vielleicht ein Hydroxyl trägt[1].

Die Stabilität des Ferro- wie des Ferricytochroms c innerhalb eines großen p_H-Bereichs läßt zusammen mit den variablen Bindungsverhältnissen der Ferriform, wie H. Theorell[2] sich ausdrückt, «verstehen, daß das Eisen im Cytochrom c leicht und schnell oxydoreduzierbar ist», während andererseits die feste Bindung der hämochromogenbildenden Gruppen mit dem Eisen

[1] H. Theorell, Bio. Z. *285*, 207 (1939). – H. Theorell und A. Akeson, Science *90*, 67 (1939); J. Am. chem. Soc. *63*, 1812 (1941).
[2] Vgl. J. B. Conant, The Harvey Lectures *28*, 159 (1932/33). – J. Wyman, J. biol. Chem. *127*, 1, 581 (1939). – H. Theorell und A. Akeson, J. Am. chem. Soc. *63*, 1818 (1941).
[3] H. Theorell, Erg. Enzymforsch. *9*, 255 (1943).
[4] H. Theorell, Erg. Enzymforsch. *9*, 252 (1943).
[5] C. D. Coryell und L. Pauling, J. biol. Chem. *132*, 769 (1940).
[6] H. Theorell und Å. Åkeson, Ark. Kemi Mineral. Geol. *16*, A, n:o 14 (1943).

[1] H. Theorell, Erg. Enzymforsch. *9*, 255 (1943).
[2] H. Theorell, Erg. Enzymforsch. *9*, 256 (1943).

bei physiologischen p_H-Werten, im Gegensatz zum Hämoglobin, eine Reaktion mit molekularem Sauerstoff, Kohlenoxyd, Cyan usw. verhindert.

Die Analyse der Eiweißkomponente des Cytochroms c ist von D. Keilin und E. F. Hartree[1], ganz besonders aber von H. Theorell und Å. Åkeson[2] im Hinblick auf ihren Gehalt an Aminosäuren sowohl qualitativ wie quantitativ sorgfältig durchgeführt worden.

Vom Myoglobin wie von den Cytochromen spektroskopisch verschieden ist das grünlich gefärbte, autoxydable *Atmungsferment* von O. Warburg[3]. Die prosthetische Gruppe dieses weit verbreiteten Hämoproteids ist mit dem Häm des Spirographisporphyrins nahe verwandt, aber anscheinend nicht identisch. Es zeichnet sich durch seine Reaktionsfähigkeit mit molekularem Sauerstoff aus und soll daher die Sauerstoffübertragung in der lebenden Zelle einleiten[4] oder abschließen[5].

Eine ganz besonders hohe und augenfällige Aktivität entwickeln die Hämoproteide in Form der Peroxydasen und Katalasen, in denen das Eisen in der Regel dreiwertig bleibt.

Die *Peroxydasen* erhielten ihren Namen von der Fähigkeit, Sauerstoff von Hydroperoxyd auf Polyphenole zu übertragen. Am besten untersucht sind bis jetzt die *Meerrettichperoxydase*[6], die *Cytochromperoxydase*[7], die grünliche *Verdoperoxydase*[8] aus Eiter und die ebenfalls grünliche *Lactoperoxydase*[9] aus Milch. Die Peroxydasen sind im Pflanzenreich allgemein verbreitet. Im Tierreich werden sie nur in gewissen Organen angetroffen und sind früher vielfach mit Oxydasen verwechselt worden.

Das geeignetste Ausgangsmaterial für die Herstellung von Peroxydasepräparaten bildete seit langem der Meerrettich. Die ersten Versuche zur Herstellung von Peroxydasepräparaten und zur Messung ihrer Wirksamkeit wurden in Genf vor mehr als 40 Jahren von A. Bach und R. Chodat[1] ausgeführt. Diese Forscher haben auch bereits die Oxydation von Pyrogallol mit Hydroperoxyd zu Purpurogallin in Gegenwart von Peroxydase als Maß für die Wirksamkeit von Enzympräparaten benützt, eine Reaktion, die unter abgeänderten Versuchsbedingungen auch heute noch zur Bestimmung der sog. Purpurogallinzahl als Wert für die Wirksamkeit von Peroxydasepräparaten dient. Eine bedeutende Steigerung der Wirksamkeit, d.h. Anreicherung des Enzyms, wurde vor etwa 30 Jahren im Willstätterschen Laboratorium erreicht[2], wo möglichst reine Peroxydasepräparate als Katalysatoren bei photosynthetischen Versuchen mit reinem Chlorophyll benötigt wurden. Die Photosynthese außerhalb der Zelle blieb damals und ist auch heute noch ein ungelöstes Problem, doch war dieser Versuch zur Reinigung von Peroxydasepräparaten die erste Arbeit in der langen Reihe von Untersuchungen über Enzyme, die R. Willstätter und seine Schüler[3] durchgeführt haben. Nach heutiger Beurteilung dürften die besten Meerrettich-Peroxydasepräparate des Willstätterschen Laboratoriums höchstens 50% des reinen Enzyms enthalten haben. Eisen wurde in jenen Präparaten nachgewiesen[4]. Der Eisengehalt schien mit der enzymatischen Wirksamkeit parallel zu gehen, doch war er, nach heutiger Beurteilung, bestimmt zu hoch, um dem Enzym allein anzugehören. Die später einsetzende Diskussion, auf Grund der Arbeiten von R. Willstätter und A. Pollinger[5] sowie von R. Kuhn, D. B. Hand und M. Florkin[6], ferner von K. A. C. Elliott und D. Keilin[7] und von D. Keilin und T. Mann[8], hat die Eisenfrage nicht klar zu lösen vermocht, bis es H. Theorell[9] gelang, aus weitgehend gereinigten Präparaten mit Aceton-Salzsäure Hämin abzuspalten und die farblose, inaktive Proteinkomponente durch Umsetzung mit Hämatin in das Enzym zurückzuverwandeln. Damit war die Meerrettichperoxydase als Hämoproteid charakterisiert.

[1] D. Keilin und E. F. Hartree, Proc. Roy. Soc. London, *B*, *122*, 298 (1937).

[2] H. Theorell und Å. Åkeson, J. Am. chem. Soc. *63*, 1804 (1941).

[3] O. Warburg und E. Negelein, Bio. Z. *202*, 202 (1928); *214*, 64 (1929); *262*, 237 (1933). – O. Warburg, E. Negelein und E. Haas, Bio. Z. *266*, 1 (1933). – E. Negelein und W. Gerischer, Bio. Z. *268*, 1 (1934).

[4] O. Warburg, Naturwiss. *22*, 441 (1934).

[5] Vgl. H. Theorell, Konstitution und Wirkung einiger Häminproteide, in: Zur Chemie, Physiologie und Pathologie des Eiweißes, S. 73ff. Bern 1944.

[6] A. Bach und R. Chodat, Ber. dtsch. chem. Ges. *36*, 600 (1903); *37*, 1342 (1904); *37*, 2434 (1904). – A. Bach, Ber. dtsch. chem. Ges. *37*, 3785 (1904). – A. Bach und J. Tscherniack, Ber. dtsch. chem. Ges. *41*, 2345 (1908). – A. Bach, Ber. dtsch. chem. Ges. *47*, 2122, 2125 (1914). – R. Willstätter und A. Stoll, Liebigs Ann. Chem. *416*, 21 (1918). – R. Willstätter, Liebigs Ann. Chem. *422*, 47 (1921). – R. Willstätter und A. Pollinger, Liebigs Ann. Chem. *430*, 269 (1923); Z. physiol. Chem. *130*, 281 (1923). – R. Willstätter und H. Weber, Liebigs Ann. Chem. *449*, 156 (1926); *449*, 175 (1926). – R. Willstätter, A. Pollinger und H. Weber in: R. Willstätter, Untersuchungen über Enzyme, Bd. I, 516, 521. Berlin 1928. – R. Willstätter, Ber. dtsch. chem. Ges. *59*, 1871. (1926).

[7] A. M. Altschul, R. Abrams und T. R. Hogness, J. biol. Chem. *130*, 427 (1939); *136*, 777 (1940). – R. Abrams, A. M. Altschul und T. R. Hogness, J. biol. Chem. *142*, 303 (1942).

[8] K. Agner, Acta physiol. Scand. Bd. II, Suppl. VIII (1941).

[9] H. Theorell und Å. Åkeson, Ark. Kemi Mineral. Geol. *17*, B, n:o 7 (1943). – H. Theorell und K. G. Paul, Ark. Kemi Mineral. Geol. *18*, A, n:o 12 (1944).

[1] A. Bach und R. Chodat, Ber. dtsch. chem. Ges. *36*, 600 (1903.) – Vgl. auch Fußnote 6, Kol. 1.

[2] R. Willstätter und A. Stoll, Liebigs Ann. Chem. *416*, 21 (1918). – Vgl. auch Fußnote 6, Kol. 1.

[3] Vgl. R. Willstätter, Untersuchungen über Enzyme. Springer, Berlin 1928.

[4] R. Willstätter und A. Stoll, Liebigs Ann. Chem. *416*, 60 (1918).

[5] R. Willstätter und A. Pollinger, Liebigs Ann. Chem. *430*, 269 (1923). – R. Willstätter, A. Pollinger und H. Weber in: R. Willstätter, Untersuchungen über Enzyme, Bd. I, 516, 521. Berlin 1928.

[6] R. Kuhn, D. B. Hand und M. Florkin, Z. physiol. Chem. *201*, 255 (1931).

[7] K. A. C. Elliot und D. Keilin, Proc. Roy. Soc. London, B, *114*, 210 (1934).

[8] D. Keilin und T. Mann, Proc. Roy. Soc. London B, *122*, 119 (1937).

[9] H. Theorell, Ark. Kemi Mineral. Geol. *14*, B, n:o 20 (1940).

Durch Elektrophorese konnte H. Theorell[1] die Präparate weiter reinigen und sie schließlich aus wässerigen Ammonsulfatlösungen kristallisieren. Die in doppelbrechenden Nadeln kristallisierende Meerrettichperoxydase erwies sich auf Grund von Löslichkeitsbestimmungen[1], ferner bei der Elektrophorese, bei der Ultrazentrifugierung und bei Diffusionsversuchen als einheitliche Substanz. Ihr Hämingehalt beträgt 1,48%, ihr Eisengehalt daher 0,127%. Aus diesen Werten und aus der Sedimentationskonstante errechnete sich ein Molekulargewicht von 44000[2]. Dieses Molekül enthält ein Atom Eisen.

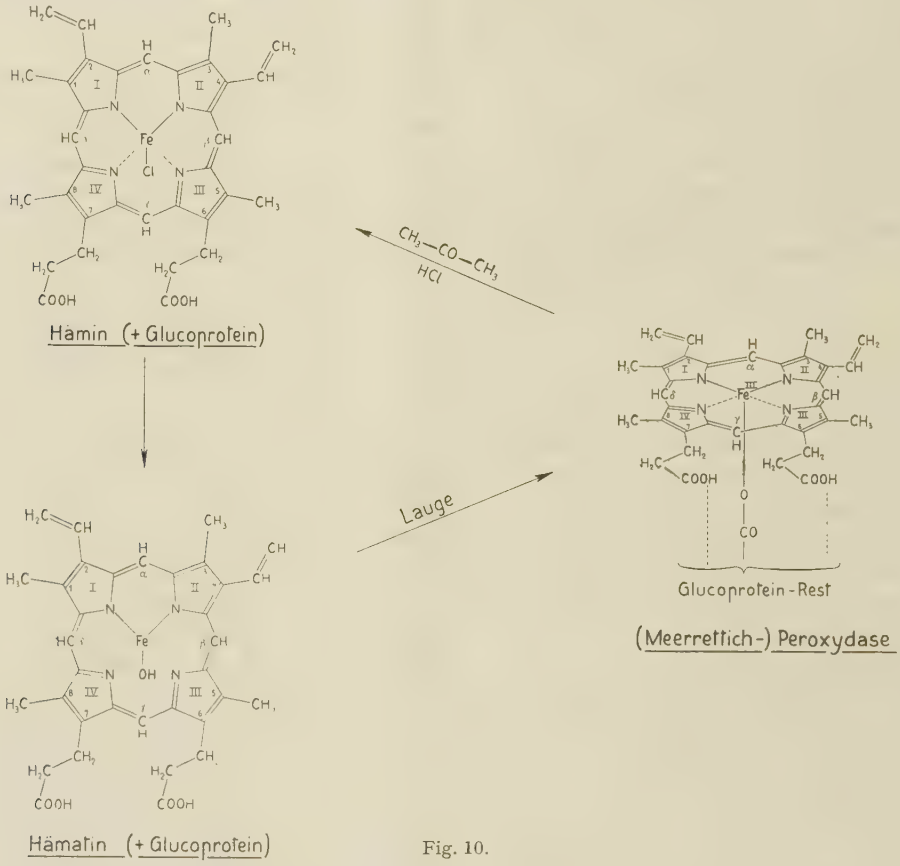


Fig. 10.

Die Wirksamkeit der kristallisierten Meerrettichperoxydase entspricht nach H. Theorell einer Purpurogallinzahl von rund 1000. Höhere, in der Literatur vorkommende Werte werden von H. Theorell angezweifelt. In Übereinstimmung mit dem etwas unerwarteten Molekulargewicht von 44000, das kein ganzes Vielfaches der Svedberg-Einheit von 17000 darstellt, steht die Tatsache, daß die Proteinkomponente der Peroxydase erhebliche Mengen – gegen $^1/_5$ – von Kohlehydraten enthält[2].

Neben oder anstelle der Peroxydase hat H. Theorell die labilere sogenannte *Paraperoxydase* isoliert[1]. Bei gleicher Purpurogallinzahl ist ihr Stickstoffgehalt höher, was vermutlich von einem teilweisen Verlust des Kohlehydratanteils herrührt[2].

Es wurde bereits erwähnt, daß es H. Theorells Experimentierkunst ermöglichte, Peroxydase in prosthetische Gruppe und Protein so schonend zu spalten, daß die Eiweißkomponente in ihrer Feinstruktur erhalten blieb, aber unwirksam war. Die Vereinigung des wieder in Lösung gebrachten Proteins mit der äquivalenten Menge von reinem Hämatin ergab eine Peroxydase mit identischem Absorptionsspektrum und gleicher Wirkung wie die nichtgespaltene, natürliche Peroxydase[1] (vgl. Fig. 10). Eigentümlicherweise läßt sich Hämin durch nahe Verwandte substituieren, wenn dabei auch eine herabgesetzte Wirksamkeit entsteht[2]. Mesohämin lieferte eine Peroxydase mit etwa halber, Deuterohämin mit fast $^2/_3$ Wirksamkeit der natürlichen Peroxydase, während fernerstehende Häminderivate und auch Eisenkomplexsalze von Chlorophyllderivaten, wie Phäophorbid a, Chlorin e_6 usw. mit Peroxydaseprotein keine wirksamen Chromoproteide ergaben. Immerhin ist an den Beispielen mit Mesohämin und Deuterohämin die Darstellung «künstlicher», d.h. in

[1] H. Theorell, Ark. Kemi Mineral. Geol. *16*, A, n:o 2 (1942).
[2] H. Theorell, Ark. Kemi Mineral. Geol. *15*, B, n:o 24 (1942).

[1] H. Theorell, Ark. Kemi Mineral. Geol. *14*, B, n:o 20 (1940); *16*, A, n:o 2 (1942).
[2] H. Theorell, Erg. Enzymforsch *9*, 263 (1943).

r Natur bisher nicht beobachteter Enzyme von
her Wirksamkeit erwiesen.

In bezug auf die Bindung der Proteinkomponente
den Protoporphyrin-Eisen-Komplex hat H. Theo-
ell wahrscheinlich gemacht, daß eine Hauptvalenz
s Eisens mit einer freien Carboxylgruppe des Proteins
rbunden ist und daß daneben, wie im Hämoglobin,
eitere schwache Bindungen zwischen Protein und den
ropionsäure-Carboxylen des Porphinsystems beste-
en[1] (vgl. Fig. 10).

Für den Mechanismus der Peroxydasereaktion mit
Vasserstoffsuperoxyd wird angenommen, daß das
reiwertige Eisen unter Übergang in die grüne Hydro-
eroxydperoxydase ohne Valenzwechsel ein Hydro-
eroxydmolekül binde und aktiviere. In Gegenwart
nes Sauerstoffakzeptors wird dieser oxydiert und
nter Bildung von Wasser die Peroxydase zurückgebil-
et. Auf diese Weise kann, wie H. Theorell berech-
ete, unter geeigneten Bedingungen ein Atom Eisen
der Minute etwa eine Million, also in der Sekunde
ehr als 16000 Hydroperoxydmoleküle umsetzen[2].

Im Gegensatz zu dieser altbekannten Sauerstoffüber-
agung aus Hydroperoxyd ist die Funktion der Per-
xydase als Dioxymaleinsäure*oxydase*, wie H. Theo-
ell und B. Swedin[3] zeigen konnten, mit einem Va-
nzwechsel des Eisens verknüpft. Auf den kompliziер-
ren Mechanismus dieser Reaktion möchten wir hier
icht eingehen, aber festhalten, daß — wie beim War-
urgschen Atmungsferment — unter gewissen physio-
gischen Bedingungen auch eine Übertragung von
olekularem Sauerstoff unter Mitwirkung von Per-
xydase möglich erscheint.

A. M. Altschul, R. Abrams und T. R. Hogness[4]
aben aus Bäckereihefe eine Peroxydase erhalten, die
duziertes Cytochrom c hemmbar oxydiert und des-
alb *Cytochromperoxydase* genannt wurde. Ihre Rei-
gung ist bis zu einem «Hämin»gehalt von etwa 1% elungen[5]. Es ist wahrscheinlich, daß sie ebenfalls Pro-
porphyrin enthält. Sie vermag pro Eisenatom eben-
lls ein Molekül Hydroperoxyd zu binden[5].

Als erste *tierische* Peroxydase ist von R. Agner[6] ie *Verdoperoxydase* beschrieben worden. Sie ist von rünlicher Farbe, findet sich in erheblichen Mengen im iter und konnte auch aus weißen Blutkörperchen oliert werden. Die Verdoperoxydase ist 10—20mal eniger aktiv als Meerrettichperoxydase. Mit Aceton-alzsäure ist sie im Gegensatz zu dieser nicht spaltbar. uch sie wird als Hämoproteid angesehen.

[1] H. Theorell, Erg. Enzymforsch. *9*, 274 (1943).
[2] H. Theorell, Erg. Enzymforsch. *9*, 276 (1943).
[3] H. Theorell und B. Swedin, Naturwiss. *27*, 95 (1939). – Vgl. ch: H. Theorell, Erg. Enzymforsch. *9*, 278 (1943).
[4] A. M. Altschul, R. Abrams und T. R. Hogness, J. biol. Chem. *0*, 427 (1939).
[5] A. M. Altschul, R. Abrams und T. R. Hogness, J. biol. Chem. *2*, 303 (1942).
[6] K. Agner, Acta physiol. Scand. *2*, Suppl. *8* (1941).

Vor wenigen Jahren gelang H. Theorell und K. Agner[1] die Reindarstellung einer weiteren tierischen Peroxydase, der ebenfalls grünlich gefärbten *Lactoperoxydase* aus Milch. Der Eisengehalt der beiden grünen Peroxydasen ist ungefähr derselbe, doch scheinen im Eisen-Porphin-Komplex Verschiedenheiten zu bestehen.

Außerordentlich verbreitet im Tier- und im Pflanzenreich sind Enzyme, die einer weiteren Gruppe von Hämoproteiden angehören: *die Katalasen*[2]. Sie haben ihren Namen von der Fähigkeit, Hydroperoxyd katalytisch zu spalten. Die Beobachtung, daß H_2O_2 von Zellsubstanz gespalten wird, wurde schon 1811[3] gemacht und ist ebenso alt wie die erste Darstellung von Hydroperoxyd. Bis 1900 hat man geglaubt, daß die Katalasereaktion eine Äußerung lebender Zellen sei, bis O. Loew[4] sie besonderen Substanzen zuschrieb, die man als Fermente bezeichnete.

Die Katalasen kommen in fast allen tierischen Organen vor, erreichen jedoch ihre höchste Konzentration in der Leber, weshalb sie zumeist aus diesem Organ präparativ dargestellt werden[5]. Man hat Katalase aber auch aus anderen tierischen Organen, z. B. aus roten Blutkörperchen[6] und zuletzt auch aus Bakterien[7] rein dargestellt. Im Pflanzenreich sind besonders Keimlinge, z. B. Kürbiskotyledonen, reich an Katalase[8].

Die Leberkatalase ist 1937 von J. B. Sumner und A. L. Dounce aus dioxanhaltiger Ammonsulfatlösung zum erstenmal kristallisiert erhalten worden[9]. Die Aktivität solcher Präparate wurde zu 43000 «Kat. f.»[10] später aber auch geringer, bis herab zu 22000[11] ermittelt. Im Gegensatz hierzu fand K. Agner[12] die Aktivität von kristallisierter Pferdeleberkatalase als konstant, und zwar zu 60000 «Kat. f.». Der Eisengehalt

[1] Vgl. H. Theorell in: Zur Chemie, Physiologie und Pathologie des Eiweißes, S. 78. Bern 1944.
[2] Der Abschnitt über Katalasen wurde zur Vervollständigung dieses Übersichtsreferates nach dem Vortrag, den Prof. H. Theorell gleichen Tages in Genf gehalten hat, ergänzt; siehe die in einem der nächsten Hefte erscheinende Arbeit von H. Theorell über die Katalasen.
[3] L. J. de Thénard, Ann. Chim. Phys. *11*, 85 (1819).
[4] O. Loew, U. S. Dept. Agric. Report No. 68 (1901).
[5] H. v. Euler und K. Josephson, Liebigs Ann. Chem. *452*, 158 (1927); *455*, 1 (1927). – K. Zeile und H. Hellström, Z. physiol. Chem. *192*, 171 (1930). – K. Zeile, Z. physiol. Chem. *195*, 39 (1931). – J. B. Sumner und A. L. Dounce, Science *85*, 366 (1937); J. biol. Chem. *121*, 417 (1937). – A. L. Dounce und O. Frampton, Science *89*, 300 (1940). – J. B. Sumner, A. L. Dounce und V. L. Frampton, J. biol. Chem. *136*, 343 (1940). – K. Agner, Biochem. J. *32*, 1702 (1938).
[6] K. Agner, Ark. Kemi Mineral. Geol. *17*, B, n:o 9 (1943).
[7] D. Herbert und A. Pinsent, Nature *160*, 125 (1947).
[8] K. Zeile, Z. physiol. Chem. *195*, 39 (1931).
[9] J. B. Sumner und A. L. Dounce, Science *85*, 366 (1937); J. biol. Chem. *121*, 417 (1937). – A. L. Dounce, J. biol. Chem. *143*, 497 (1942).
[10] «Kat. f.» = Katalasefähigkeit ist die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante dividiert durch g/Präparat pro cm^3 bei 0^0 in neutralem Phosphatpuffer. Das in Zeitintervallen noch vorhandene H_2O_2 wird mit $KMnO_4$ in schwefelsaurer Lösung titriert (H. v. Euler und K. Josephson, Liebigs Ann. Chem. *452*, 158 (1927). – J. B. Sumner und A. L. Dounce, J. biol. Chem. *127*, 439 (1939).
[11] J. B. Sumner, A. L. Dounce und V. L. Frampton, J. biol. Chem. *136*, 343 (1940).
[12] K. Agner, Biochem. J. *32*, 1702 (1938).

der Rinderleber- wie der Pferdeleberkatalase ist zu 0,09 bis 0,1% ermittelt worden. Da das Molekulargewicht dieser Katalasen nach J. B. Sumner und N. Gralén[1] 248000 bzw. nach K. Agner[2] 225000 beträgt, muß ein Katalasemolekül 4 Atome Eisen enthalten.

Eine Besonderheit der Leberkatalasen schien darin zu bestehen, daß die frischen Präparate zwei verschieden gefärbte prosthetische Gruppen enthielten: eine rotbraune, die als Protohämin abgespalten werden kann[3], und eine blaue, die nach K. G. Stern mit Aceton-Salzsäure abtrennbar ist[4] und von R. Lemberg, M. Norrie und J. W. Legge[5] als Biliverdin kristallisiert erhalten wurde. Es konnte gezeigt werden, daß bei der Pferdeleberkatalase mit einem Eisengehalt von 0,091 bis 0,094%, einem Molekulargewicht von 225000 und einer Aktivität von 60000 drei der vier Eisenatome des Moleküls mit der rotbraunen prosthetischen Gruppe verbunden, also Bestandteile von Hämatinen sind, während es unsicher blieb, ob das vierte Eisenatom der blauen Biliverdinkomponente angehört oder nicht. Andererseits durfte vermutet werden, daß in der Rinderleberkatalase von gleichem Eisengehalt und Molekulargewicht, aber geringerer Aktivität (28000 bis 35000) vielleicht nur zwei der vier Eisenatome in der rotbraunen Porphingruppe gebunden sind[6].

Schwankungen in der Aktivität von kristallisierten Katalasepräparaten konnten wenigstens zum Teil von Ungenauigkeiten der Bestimmungsmethode herrühren. Durch eine Modifikation der älteren Methode von H. von Euler und K. Josephson konnte H. Theorell die Bestimmung der katalytischen Aktivität verbessern. Durch Erhöhung der Katalasekonzentration auf das 40—50fache war über eine meßbare Zeit hinweg eine konstante Aktivität aufrechtzuerhalten, so daß anstelle der Extrapolation auf die Zeit Null eine direkte Messung treten konnte. Die Reaktion verläuft dann genau proportional mit der Konzentration des H_2O_2 und liefert genauere Werte als die alte Methode.

Die in den erwähnten Untersuchungen von J. B. Sumner und K. Agner zutage getretenen Divergenzen der Aktivität von Leberkatalasen wurden neulich von H. Theorell und Mitarbeitern aufgeklärt. Sie konnten zeigen, daß die blaue Biliverdinkomponente dieser Katalasen höchstwahrscheinlich ein Artefakt ist, das bei der Aufarbeitung der Katalasepräparate entsteht, und daß mit Zunahme des relativen Anteils der blauen Komponente die katalytische Aktivität entsprechend abnimmt. Es gelang die Darstellung von biliverdinfreier Leberkatalase, die nach der neuen Bestimmungsmethode eine Aktivität von 90000 aufwies. Ferner konnte gezeigt werden, daß die Katalasepräparate aus verschiedenen Organen ein und desselben Tieres identisch sind[1].

Die Ergebnisse von H. Theorell fanden eine schöne Bestätigung durch die Isolierung einer kristallisierten Katalase aus *Micrococcus lysodeikticus* durch D. Herbert und A. J. Pinsent[2]. Diese Bakterienkatalase besitzt ein Molekulargewicht von 226000 bis 248000 und einen Hämingehalt von 1,05 bis 1,15%, sie ergibt also ähnliche Werte wie die tierischen Katalasen; sie weist die Biliverdinkomponente *nicht* auf und besitzt ebenfalls die hohe Aktivität von 90000. Die Annahme erscheint daher berechtigt, daß in den Katalasen mit der Aktivität 90000 alle vier Hämatingruppen als gleiche Eisenkomplexe des Protoporphyrins vorhanden sind.

Katalasen *pflanzlichen* Ursprungs scheinen viel weniger aktiv zu sein; so besitzt elektrophoretisch einheitliche Kürbiskatalase eine Aktivität von nur etwa 1000[3]. Wahrscheinlich unterscheidet sich ihre Proteinkomponente erheblich von jener der bisher kristallisiert erhaltenen Katalasen.

Der Stickstoffgehalt der Proteinkomponente der Pferdeleberkatalase ist von K. Agner zu 16,8% bestimmt worden[4]. Über die Zusammensetzung dieses Proteins aus seinen Bausteinen haben H. Theorell und Å. Åkeson[5] eingehende Untersuchungen durchgeführt und vor allem den Gehalt an Histidin (3,87%), Arginin (7,72%) und Lysin (7,70%) festgestellt, so daß auf ein Fe 16 Mol Histidin, 27 Mol Arginin und 32 Mol Lysin treffen; diese Werte entsprechen allen «Bergmann-Zahlen», die sich als $2^n \cdot 3^m$ ausdrücken lassen. Auch Cytochrom c und die Meerrettichperoxydase scheinen in ihrem Gehalt an Aminosäuren mit der Bergmann-Niemannschen Frequenztheorie übereinzustimmen.

In den Katalasen ist das Eisen in der *drei*wertigen Form gebunden, womit übereinstimmt, daß ihr Spektrum dem des Methämoglobins ähnlich ist[6]. L. Michaelis und S. Granick[7] sowie H. Theorell und K. Agner[8] konnten diese Auffassung durch Messungen der Suszeptibilität an Rinder- bzw. Pferdeleberkatalase bestätigen.

D. Keilin und E. F. Hartree[9] haben den Wirkungsmechanismus der Katalase unter Annahme eines

[1] J. B. Sumner und N. Gralén, J. biol. Chem. *125*, 33 (1938).
[2] K. Agner, Biochem. J. *32*, 1702 (1938).
[3] K. Zeile und H. Hellström, Z. physiol. Chem. *192*, 171 (1930). K. G. Stern, J. biol. Chem. *112*, 661 (1935).
[4] K. G. Stern, J. biol. Chem. *112*, 661 (1935).
[5] R. Lemberg, M. Norrie und J. W. Legge, Nature *144*, 551 (1939).
[6] J. B. Sumner und A. L. Dounce, J. biol. Chem. *127*, 439 (1939).
[1] R. K. Bonnichsen, Arch. Biochem. *12*, 83 (1947).
[2] D. Herbert und A. J. Pinsent, Nature *160*, 125 (1947).
[3] L. Emden, Festschrift A. Stoll, S. 453, Basel 1947.
[4] K. Agner, Ark. Kemi Mineral. Geol. *16*, A, n:o 6 (1942).
[5] H. Theorell und Å. Åkeson, Ark. Kemi Mineral. Geol. *16*, A, n:o 8 (1942).
[6] D. Keilin und E. F. Hartree, Proc. Roy. Soc. London B, *121*, 173 (1936).
[7] L. Michaelis und S. Granick, Science *94*, 285 (1941); J. gen. Physiol. *25*, 325 (1941).
[8] H. Theorell und K. Agner, Ark. Kemi Mineral. Geol. *16*, A, n:o 7 (1942).
[9] D. Keilin und E. F. Hartree, Proc. Roy. Soc. London B, *24*, 397 (1938).

Valenzwechsels des Eisens zu erklären versucht, doch konnten H. Theorell und K. Agner[1] bei der Nachbearbeitung der Versuche von Keilin und Hartree deren Versuchsergebnisse nicht bestätigen. J. B. Sumner[2] schlug dann als Modifikation älterer Theorien von F. Haber[3], von H. von Euler[4] und von L. Liebermann[5], unter Annahme stets dreiwertigen Eisens die folgende Formulierung vor:

$$Fe{-}OH + H_2O_2 = Fe{-}O{-}OH + H_2O \quad (1)$$
$$Fe{-}OOH + H_2O_2 = Fe{-}OH + H_2O + O_2 \quad (2)$$

Doch haben erst die neuesten Arbeiten von H. Theorell[6] und seinen Mitarbeitern[7] Licht in den Wirkungsmechanismus der Katalasereaktion hineingebracht und gezeigt, daß diese bei sehr geringen und bei größeren Hydroperoxydkonzentrationen verschieden verläuft. Durch Beobachtung der Änderung der Lichtabsorption in einer Kapillare nach der Methode von Hartridge, Roughton, Millikan, in der eine Lösung von Katalase mit einer sehr verdünnten H_2O_2-Lösung sich mischen und mit erheblicher Geschwindigkeit (10 m in der Sekunde) vorbeifließen, gelingt es, bei einer Katalasekonzentration von etwa 4 μ Mol/l an ein Additionsprodukt von Katalase und Hydroperoxyd nachzuweisen, in dem auf 4 Atome Fe nur 1 Mol H_2O_2 trifft und welches das Eisen dreiwertig enthält. Wie bei der Peroxydase erhält man also gemäß der untenstehenden Gleichung (1) auch bei der Katalase mit H_2O_2 niedriger Konzentration ein grünes Addukt, das über eine kurze Zeit beständig ist.

Bei Gegenwart eines Alkohols, z. B. Methanol, reagiert dieses Addukt nach Gleichung (2): es oxydiert den Alkohol zum Aldehyd unter Rückbildung der Katalase; der Vorgang ist der einer Peroxydasereaktion. Nur die Verbindung der Katalase mit 1 H_2O_2 ist relativ beständig; trifft auf 4 Eisenatome mehr als ein Mol Hydroperoxyd, so verläuft die Reaktion nach Gleichung (3) oder (4) und es wird Sauerstoff «explosionsartig» in Freiheit gesetzt.

$$\begin{matrix} HOFe \cdot FeOH \\ \cdot \quad \cdot \\ HOFe \cdot FeOH \end{matrix} + H_2O_2 \rightarrow \begin{matrix} HOFe \cdot FeOOH \\ \cdot \quad \cdot \\ HOFe \cdot FeOH \end{matrix} + H_2O \quad (1)$$

$$\begin{matrix} HOFe \cdot FeOOH \\ \cdot \quad \cdot \\ HOFe \cdot FeOH \end{matrix} + CH_3OH \rightarrow \begin{matrix} HOFe \cdot FeOH \\ \cdot \quad \cdot \\ HOFe \cdot FeOH \end{matrix} + CH_2O + H_2O \quad (2)$$

$$\begin{matrix} HOFe \cdot FeOOH \\ \cdot \quad \cdot \\ HOFe \cdot FeOH \end{matrix} + H_2O_2 \rightarrow \begin{matrix} HOFe \cdot FeOH \\ \cdot \quad \cdot \\ HOFe \cdot FeOH \end{matrix} + O_2 + H_2O \quad (3)$$

$$\begin{matrix} HOFe \cdot FeOOH \\ \cdot \quad \cdot \\ HOFe \cdot FeOH \end{matrix} + H_2O_2 \rightarrow \begin{matrix} HOFe \cdot Fe\boxed{O}OH \\ \cdot \quad \cdot \\ HOFe \cdot Fe\boxed{O}OH \end{matrix} + H_2O \quad (4)$$

Die neueste Formulierung von H. Theorell beleuchtet die Funktion der Katalase lebender Organe in neuartiger Weise. Bei den biologischen Oxydationsvorgängen entsteht Hydroperoxyd immer nur in sehr geringer Konzentration. Die Katalase ist andererseits in so großen Mengen vorhanden (in der Leber z. B. 4 bis 5 g), daß nur ein Addukt gemäß Gleichung (1), wo auf 4 Fe-Atome ein H_2O_2 trifft, entstehen kann. Dieses setzt nicht Sauerstoff in Freiheit, es ist ein kräftiges Oxydationsmittel und dient in gleicher Weise wie die Peroxydase Oxydationsvorgängen. Die H_2O_2-Konzentration, die zur Bildung von Addukten gemäß Gleichung (3) und (4) nötig wäre, wird in lebenden Organen praktisch nie erreicht. Mit dieser Auffassung von der biologischen Funktion der Katalase als Oxydationsferment steht auch ihr ubiquitäres Vorkommen in relativ großen Mengen im Einklang.

Im Hinblick auf die beträchtliche Erweiterung und Vertiefung unserer Kenntnisse über Oxydationsenzyme ist es nicht uninteressant, auf die Problemstellung zurückzugreifen, wie sie R. Willstätter[1] gerade vor 30 Jahren in der ersten Arbeit über Peroxydase einleitend formuliert hat. Es sei noch vorausgeschickt, daß damals, wie sich der Verfasser aus einer Diskussion zwischen Fritz Haber und R. Willstätter wohl erinnert, es noch umstritten war, ob Enzyme überhaupt chemische Individuen seien, oder ob die biologische Katalyse auf Grund bestimmter physikalischer Zustände, z. B. von Oberflächen kolloider *unspezifischer* Substanzen zustande komme. Die Einleitung zu der erwähnten Arbeit von Willstätter lautet wie folgt:

«Am Beispiel der Peroxydase aus Meerrettich beginnen wir den Versuch, durch Verbesserung der Herstellungsmethode den Reinheitsgrad eines Enzympräparates mehr und mehr zu steigern, um es schließlich der analytischen Untersuchung zugänglich zu machen. Auf diesem Wege ist in erreichbarer Nähe die Entscheidung zu suchen, ob ein bestimmter Stoff, eine einzige Verbindung, die enzymatische Funktion trägt oder ein System verschiedener zusammenwirkender Verbindungen. Ferner betrifft eine der ersten Fragen die Zugehörigkeit eines Metalls in organischer Bindung zu dem Enzym; es wird sich auf analytischem Wege ergeben, ob, wie man schon vermutet hat, Eisen in komplexer Bindungsweise an der Zusammensetzung des Enzyms teilhat. In weiterer Ferne liegt das Ziel, die besonderen, leicht veränderlichen Atomgruppen zu bestimmen, die an der enzymatischen Funktion wesentlichen Anteil haben, sei es durch eigene Reaktion oder durch die Bindung eines mit Additionsvermögen ausgezeichneten Metallatoms.»

Mit bemerkenswerter Präzision hat Willstätter schon damals im Hinblick auf das Eisen die Fragen aufgeworfen, die auf Grund der neuesten Untersuchun-

[1] H. Theorell und K. Agner, Ark. Kemi Mineral. Geol. *16*, A, No 7 (1942).
[2] J. B. Sumner, Adv. in Enzymology *1*, 163 (1941).
[3] F. Haber, Z. anorg. Chem. *18*, 40 (1898).
[4] H. v. Euler, Ref. Wiedemann, Beiblätter *24*, 949 (1900). – Vgl. G. Bredig und K. Ikeda, Z. phys. Chem. *37*, 1 (1901).
[5] L. Liebermann, Arch. ges. Physiol. *104*, 119 (1904).
[6] H. Theorell, Gastvortrag v. d. Schweiz. med. biol. Ges., Genf 1947; l. c., S. 19, Fußn. 2, Kol. rechts.
[7] B. Chance, Acta chem. Scand. *1*, 235 (1947).

[1] R. Willstätter und A. Stoll, Liebigs Ann. Chem. *416*, 21 (1918).

gen an kristallisierten Enzymen bejaht worden sind. Im Grunde genommen wohnt die vielfältige Reaktionsfähigkeit, wie sie bei den Hämoproteiden in Erscheinung tritt, schon dem *Eisenion* inne. Durch die komplexe Bindung im Porphinkern tritt sie indessen deutlicher zutage. Aber erst die Bindung des Eisen-Porphin-Komplexes mit spezifischen Proteinen steigert sie ins Ungeheure und gibt ihr die Richtung, in der das Eisen als Bestandteil spezifischer Fermente zu reagieren vermag.

Summary

This survey on the chemistry of the hemins gives an account of the work of M. Nencki, F. Hoppe-Seyler, O. Piloty, R. Willstätter, W. Küster, H. Fischer, and other research workers, including the synthesis of hemin as carried out by H. Fischer. As the interest of the biologists is especially directed towards the genuine, biologically active complexes containing hemin or related compounds, an attempt has been made to describe the various kinds of hæmin-containing complexes, such as hemoglobin, myoglobin, cytochromes, peroxidases and catalases from a point of view elucidating not only their common structural principles but also the variations in their functions resulting from the small but essential differences in structure. The term "hemoproteids" is suggested for these complexes. Due praise is given to the work of H. Theorell and others, and, in the light of the most recent theories of this Swedish biologist, the mode of action of the hemoproteids of biological interest is discussed from a general point of view.

Avis de la rédaction - Redaktionelle Bemerkung
Annunzio della redazione - Editorial Advertisement

Dans ce numéro et les suivants paraîtront les conférences principales présentées à la Société suisse de biologie médicale lors de la 127me Assemblée générale de la Société helvétique des sciences naturelles) à Genève, le 31 août 1947. Elles se rapportent au rôle des hémines en biologie.

In diesem und in den folgenden Heften erscheinen laufend die vor der Schweizerischen Medizinisch-Biologischen Gesellschaft in Genf am 31. August 1947 (anläßlich der 127. Generalversammlung der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft) gehaltenen Hauptreferate zum Thema: Die Rolle der Hämine in der Biologie.

In questo e nei prossimi numeri saranno pubblicate le conferenze principali tenute in seno alla Società Svizzera di Biologia Medica, Ginevra, 31 agosto 1947 (in occasione della 127a Riunione Generale della Società Elvetica di Scienze Naturali), sul tema: L'importanza delle emine nella biologia.

In this and the following numbers the principal lectures held before the Swiss Society for Biology and Medicine in Geneva, August, 1947, during the 127th General Assembly of the "Schweizerische Naturforschende Gesellschaft" will be published consecutively, the subject of these lectures being "The role of hemins in biology".

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Note sur l'analyse discriminatoire

Introduction. Parmi les méthodes de la statistique mathématique moderne, l'analyse discriminatoire est appelée à rendre d'importants services aux sciences naturelles. Elle permet en effet de faire des distinctions entre différents groupes en se basant sur un ensemble de mesures faites sur des individus et ensuite de classer facilement un individu, rencontré ultérieurement, dans un des groupes déjà déterminés. La méthode a été employée en premier par M. Barnard[1] sur la suggestion de M. R. A. Fisher[2]; elle consiste en ceci:

On fait un certain nombre de mesures sur des individus répartis en différents groupes, ces groupes correspondant à une classification suivant une qualité particulière (par exemple le lieu de découverte). On cherche en premier si chacune des mesures prises individuellement est suffisante pour établir une discrimination entre les différents groupes de manière à pouvoir classer dans l'un des groupes un nouvel individu. On constate souvent que chaque mesure prise individuellement est insuffisante et que l'on doit considérer simultanément toutes les mesures pour établir une discrimination valable entre les différents groupes. Pratiquement le problème consiste à chercher une fonction X qui tienne compte de toutes les mesures envisagées comme variables et qui varie significativement lorsque l'on passe d'un groupe à l'autre.

Par exemple des observations faites par M. Morgenthaler[1] et ses collaborateurs à la station d'essai du Liebefeld (section pour les maladies des abeilles) ont montré que les abeilles portent certains parasites se répartissant en différents groupes suivant la partie du corps de l'abeille où ils séjournent; deux mesures furent effectuées sur ces parasites (longueur du tarse d'un membre déterminé et distance entre les stigmates). Chacune de ces mesures prise individuellement était insuffisante pour établir une discrimination entre les groupes, cependant M. Linder[2] a pu les distinguer en considérant l'ensemble des mesures.

Méthode générale. La méthode suivante permet de résoudre le problème dans le cas général.

Soit j^* groupes désignés par j, chaque groupe contenant i^* individus désignés par i (nombre total d'individus $i^* j^*$). On fait sur chaque individu l^* mesures désignées par l, le résultat de la mesure l sur l'individu ij étant $_l x_{ij}$. On cherche à former une fonction linéaire entre les l mesures

[1] M. M. Barnard, Ann. Eugenics *6*, 352 (1934/35).
[2] R. A. Fisher, Ann. Eugenics *8*, 376 (1937/38).

[1] O. Morgenthaler, Rev. suisse Zool. *41*, 429 (1934).
[2] A. Linder, Beih. schweiz. Bienen-Ztg., Heft 15, Februar 1947.

$$X_{ij} = \sum_l \lambda_l \, {}_l x_{ij} \qquad (1)$$

n choisissant les coefficients λ_l de manière à ce que X_{ij} arie peu entre différents individus appartenant à un ême groupe et varie de façon appréciable pour des in-vidus appartenant à des groupes différents. Il faut *ndre maximum le rapport de la variance entre les groupes la variance à l'intérieur des groupes.*

Désignons par B la variance à l'intérieur des groupes par A la variance entre les groupes, il vient:

$$B = \sum_i \sum_j \left(X_{ij} - \bar{X}_j\right)^2 = \sum_l \sum_m \lambda_l \lambda_m \, c_{lm} \,,$$

$$A = \sum_j \left(\bar{X}_j - \bar{X}\right)^2 \qquad = \sum_l \sum_m \lambda_l \lambda_m \, d_{lm}$$

n posant:

$$c_{lm} = \sum_i \sum_j \left({}_l x_{ij} - {}_l \bar{x}_j\right)\left({}_m x_{ij} - {}_m \bar{x}_j\right),$$

$$d_{lm} = \sum_j \left({}_l \bar{x}_j - {}_l \bar{x}\right)\left({}_m \bar{x}_j - {}_m \bar{x}\right).$$

e rapport de la variance entre les groupes à la variance l'intérieur des groupes est ainsi:

$$\varrho = \frac{A}{B} = \frac{\sum_l \sum_m \lambda_l \lambda_m \, d_{lm}}{\sum_l \sum_m \lambda_l \lambda_m \, c_{lm}} \,. \qquad (2)$$

our que ϱ soit maximum, il faut que ses dérivées pre-ières soient nulles

$$\frac{\partial \varrho}{\partial \lambda_l} = 0 \,,$$

oit:

$$\sum_m \lambda_m \left(d_{lm} - \varrho \, c_{lm}\right) = 0 \,. \qquad (3)$$

n a un système de l^* équations homogènes en λ_m; pous u'il soit compatible il faut que le déterminant des oefficients soit nul

$$\left| d_{lm} - \varrho \, c_{lm} \right| = 0 \,. \qquad (4)$$

eci donne une équation du l^{*2} degré en ϱ ce qui déter-ine l^{*2} racines. On choisit la plus grande racine positive on résout le système (3) compatible en choisissant rbitrairement un des λ_m.

Pour classer un nouvel individu on cherche la valeur ue prend pour lui la fonction X ce qui désigne le groupe uquel il doit être attribué.

Il est à remarquer qu'on ne peut pas dire à priori si ette méthode est valable dans tous les cas, car elle est oumise à la condition que l'équation (4) ait des racines ositives. Nous allons lever cette incertitude en montrant ue le problème admet toujours une solution.

Existence d'une solution. Considérons un espace eucli-ien à l^* dimensions de coordonnées λ_l; soit r la distance e l'origine à un point M et a les cosinus directeurs; on a:

$$\sum_l \lambda_l^2 = r^2 \,,$$

$$\frac{\lambda_l}{r} = a_l \,.$$

a fonction ϱ devient:

$$\varrho = \frac{\sum_l \sum_m a_l \, a_m \, d_{lm}}{\sum_l \sum_m a_l \, a_m \, c_{lm}} = \frac{A'}{B'} \,.$$

n voit que ϱ est indépendant de r. Considérons une ypersphère de rayon 1 centrée sur l'origine; sur cette phère A' et B' sont continus et positifs, car A et B le ont. De plus, comme

$$B = \sum_i \sum_j \left(X_{ij} - \bar{X}_j\right)^2 \,,$$

ne peut s'annuler pour $r \neq 0$ que si tous les X_{ij} étaient indépendants de i, cas où il n'y aurait pas de dispersion à l'intérieur des groupes.

ϱ est ainsi continu, positif et borné sur l'hypersphère; il admet donc un maximum pour un point M de celle-ci. Comme ϱ est indépendant de r, il est maximum sur la droite issue de l'origine et passant par M. Il y donc toujours une droite sur laquelle ϱ est maximum (avec une valeur positive) et les $\frac{\partial \varrho}{\partial \lambda_l}$ sont nuls. L'équation (4) admet donc toujours au moins une solution positive; s'il y en a plusieurs il convient de choisir la plus grande. Le fait que ϱ est maximum sur une droite explique que les λ_l sont déterminés à un coefficient près.

Ce travail a été encouragé par des crédits ouverts par la Confédération en vue de créer des possibilités de travail.

S. Letestu

Université de Genève, Laboratoire de statistique mathématique appliquée, le 7 mai 1947.

Summary

A general method of discriminatory analysis is described and the existence of a solution proved.

Möglicher Einfluß chemischer Gleichgewichte auf Viskosität und Relaxationszeit im Erdinnern

Nach Betrachtungen von W. Kuhn und A. Rittmann ändert sich die Zusammensetzung des Erdinnern mit der Tiefe stetig in dem Sinne, daß unter anderm der Gehalt an Wasserstoff beim Übergang von außen nach innen zunimmt. Die bei 2900 km Tiefe eintretende Änderung in der Geschwindigkeit der longitudinalen und das dort auftretende Verschwinden der transversalen Bebenwellen wird auf eine Abnahme der Viskosität η bzw. der Relaxationszeit τ für mechanische Schubspannungen zurückgeführt[1].

Zwecks Abschätzung des Gradienten von η wurde in einer in dieser Zeitschrift erschienenen Arbeit[2] der Ansatz gemacht, daß log η in einer Tiefe von 1000 km gleich 22, in einer Tiefe von 3000 km dagegen etwa gleich 14 ist, und es wurde dann angenommen, daß log η zwischen diesen beiden Punkten linear verläuft. Es ergab sich also auf einer Strecke von 2000 km eine Abnahme von log η um 8, auf einer Strecke von 100 km eine solche um 0,4 Einheiten. η selber und damit auch die Relaxationszeit τ änderte sich hiernach auf einer Strecke von 100 km *durchschnittlich* um einen Faktor $10^{0,4} = 2,5$, wobei die Möglichkeit offen bleibt, daß der Gradient *lokal* einige Male größer als dieser Mittelwert ist. Einen Hinweis darauf gibt die Tatsache, daß neben Bebenwellen mit 100 km auch solche mit 10 bis 20 km Wellenlänge in einer Tiefe von 2900 km reflektiert werden können[3].

Auf Grund nachstehender Überlegungen halte ich es für möglich, daß eine besonders rasche lokale Abnahme von η und damit von τ durch den in größerer Tiefe zunehmenden Gehalt an Wasserstoff in der Weise hervorgebracht wird, daß bei einem durch Wasserstoffgehalt, Druck und Temperatur gegebenen Zustand *eine Reduktion von* SiO_2 *zu Si stattfinden dürfte.*

Es gilt für die Reaktionen[4]:

[1] W. Kuhn und A. Rittmann, Geol. Rdsch. *32*, 215 (1941). – W. Kuhn, Naturw. *30*, 689 (1942).

[2] W. Kuhn, Exper. *2*, 391 (1946).

[3] Vgl. z.B.: G. Gutenberg, Gerlands Beitr. z. Geophysik *43*, 120 (1934).

[4] Landolt-Börnstein, Physikalisch-chemische Tabellen, Erg. Bd. IIIc, S. 2851. – J. Chipman, Trans. Am. Soc. Met. *22*, 385 (1934). – M. G. Fontana und J. Chipman, 17. Ann. Conv. Am. Soc. Met., Oktober 1935.

$(H_2)_{gas} + (O_2)_{gas} = (H_2O)_{gas}$: $F = -60180 + 13{,}84\,T$ cal
$(Si)_{fl} + (O_2)_{gas} = (SiO_2)_{Cristobalit}$: $F = -213000 + 46{,}15\,T$ cal
$F(Si)_{fl} = (Si)_{gelöst\ zu\ 1\%\ in\ fl\ Eisen}$: $F = -7000 - 7{,}78\,T$ cal

Die Beziehungen sind bis zu Temperaturen von etwa 2000° abs experimentell geprüft und können daher bei den im Erdinnern anzunehmenden höheren Temperaturen wenigstens für Abschätzungen verwendet werden. Auf Grund der zitierten Angaben ergibt sich für die Reaktion

$$SiO_2 + 4\,H_2 = Si_{gelöst} + 4\,H_2O \quad (I)$$

$F = 213000 - 46{,}15\,T$
$\quad - 120360 + 27{,}68\,T$
$\quad - 7000 - 7{,}78\,T$
$= 85640 - 26{,}25\,T$

Man erkennt daraus, daß die freie Energie für die besagte Reaktion *oberhalb etwa 3300° abs negativ wird, daß also oberhalb dieser Temperatur eine Reduktion von* SiO_2 *zu Silizium thermodynamisch möglich wird.*

Es ist klar, daß an Stelle oder neben der Bindung des entstehenden Siliziums an Eisen auch eine Bindung an Kohlenstoff, Wasserstoff oder an andere Elemente auftreten kann. Es ist auch zu beachten, daß bei den hohen in Frage kommenden Drucken schon kleinste Volumänderungen, welche sich als Folge der Reaktion ergeben könnten, großen Einfluß auf die Möglichkeit der Reaktion bzw. auf die Temperatur, bei der sie möglich wird, haben werden. Es soll damit unterstrichen werden, daß auf die genaue Angabe der Temperatur, bei welcher die Reaktion I möglich wird, kein besonderes Gewicht gelegt werden soll, wohl aber auf das qualitative Ergebnis, daß die Reduktion von SiO_2 zu Si bei genügend hoher Temperatur voraussichtlich eintreten wird.

Man erkennt, daß die Umsetzung I, sobald sie erfolgt, für die Viskosität im Erdinnern und damit für das seismische Verhalten größte Bedeutung haben muß. *Es wird ja die durch die Gegenwart der Silikate bedingte hohe Viskosität mit dem Verschwinden des* SiO_2 *weitgehend zusammenbrechen.* Es ist demnach möglich, daß eine Reduktion des SiO_2 zu Silizium für einen besonders großen *lokalen* Gradienten der Viskosität und damit für das seismische Verhalten des Erdinnern von Bedeutung ist.

Werner Kuhn

Physikalisch-chemisches Institut der Universität Basel, den 2. Dezember 1947.

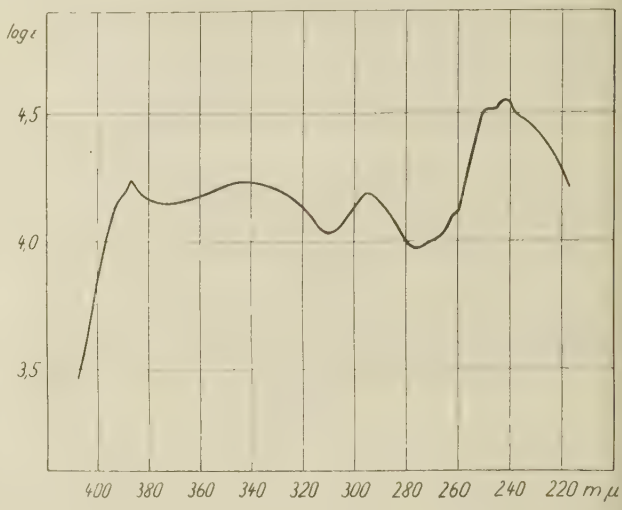
Summary

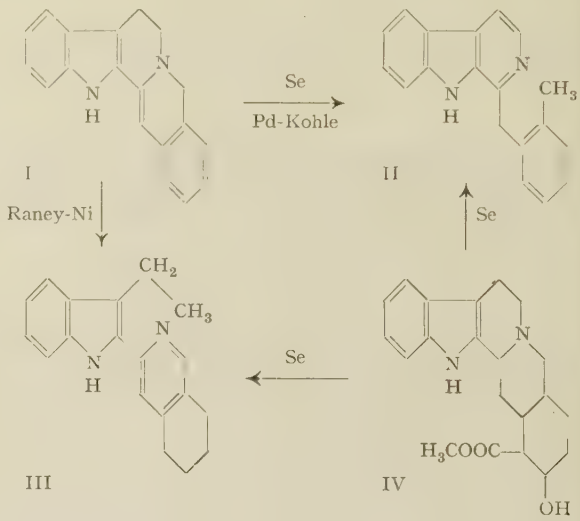
A thermodynamic consideration shows that SiO_2 may be reduced to Si by hydrogen at the temperatures present in the earth's interior. The reaction can be expected to involve a rapid change of viscosity with depth inside the earth, required for the explanation of the seismic discontinuity at 2,900 km.

Über die Konstitution des Sempervirins

Aus dem amerikanischen gelben Jasmin, *Gelsemium sempervirens* Ait., wurde ein kristallisiertes gelbes Alkaloid $C_{19}H_{16}N_2$, das Sempervirin, isoliert[1]. Dieses bildet Salze mit 1 Mol Säure, gibt mit Methyljodid ein quaternäres Monojodmethylat[2] und zeigt ein eigenartiges Absorptionsspektrum[1] (vgl. Fig.). Über seine Konstitution war praktisch nichts bekannt.

Wir konnten feststellen, daß Sempervirin ein aktives Wasserstoffatom enthält; es besitzt keine >N–CH_3-Gruppe. Durch Erhitzen mit Selen oder Palladiumkohle geht es in das isomere Yobyrin über, ein Dehydrierungsprodukt des Yohimbins und anderer verwandter Alkaloide[2,3]. Für das Yobyrin wurde von B. Witkop[4] auf analytischem und von G. R. Clemo und G. A. Swan[5] auf synthetischem Wege die Konstitution II bewiesen.





Durch Kochen mit Raney-Nickel in Xylollösung ließ sich aus Sempervirin weiter das sogenannte «Tetrahydro-yobyrin» III erhalten, welches ebenfalls durch

[1] Vgl. V. Hasenfratz, Bull. Soc. chim. France *53*, 1084 (1933). – Die ältere Literatur über Sempervirin ist zusammengefaßt in: T. A. Henry, The Plant Alkaloids, 3rd ed. London, 1939, p. 614.

[2] W. G. C. Forsyth, S. F. Marrian und T. S. Stevens, J. chem. Soc. *1945*, 579.

[1] Das Absorptionsspektrum wurde in alkoholischer $4{,}2 \cdot 10^{-5}$-m. Lösung mit Beckman-Spektrophotometer aufgenommen. Vgl. M. M. Janot und A. Berton, C. R. Acad. Sci. *216*, 564 (1943). Das dort veröffentlichte Absorptionsspektrum ist wegen fehlerhaften Plattenmaterials nicht ganz richtig.

[2] F. Mendlik und J. P. Wibaut, Rec. Trav. chim. Pays-Bas *48*, 191 (1929); *50*, 91 (1931). – J. P. Wibaut und A. J. P. van Gastel, ib. *54*, 85 (1933). – G. Barger und C. Scholz, Helv. chim. Acta *16*, 1343 (1933); *18*, 923 (1945). – M. M. Janot und R. Goutarel, Bull. Soc. chim. France *1946*, 535.

[3] Für die freundliche Überlassung eines Vergleichspräparates danken wir Herrn Prof. J. P. Wibaut, Amsterdam.

[4] Liebigs Ann. Chem. *554*, 83 (1943), sowie F. Pruckner und B. Witkop, ib. S. 127.

[5] J. chem. Soc. *1946*, 617.

ehydrierung aus Yohimbéalkaloiden[1] entsteht. Die erähnten Reaktionen und das Absorptionsspektrum prechen dafür, daß dem Sempervirin wahrscheinlich le Formel I zukommt.

Das Sempervirin ist demnach mit Yohimbéalkaloiden, eren bekanntester Vertreter das Yohimbin IV ist, nahe erwandt. Die Formel I wurde früher irrtümlicherweise em Yobyrin zugeschrieben.

Versuche zur Synthese des Sempervirins werden in nseren Laboratorien durchgeführt.

R. Goutarel, M.-M. Janot und V. Prelog

Laboratoire de pharmacie galénique, Faculté de pharmacie, Paris, und Laboratorium für organische Chemie, idg. Technische Hochschule, Zürich, den 8. Dezember 947.

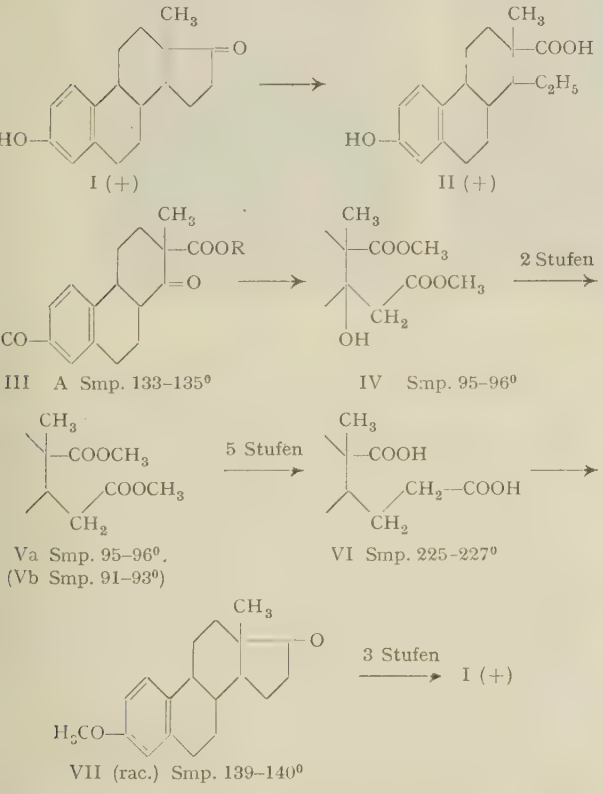
Résumé

En conclusion de quelques nouvelles réactions et de mesure de son spectre d'absorption, la formule I est roposée pour la Sempervirine $C_{19}H_{16}N_2$, l'alcaloïde une de *Gelsemium sempervirens*.

[1] Siehe Note 2, S. 24, Kol. 2.

Die Totalsynthese des natürlichen Östrons[1]

Die Totalsynthese des natürlichen Östrons wurde alsald nach der Erkennung seiner Konstitution zu Beginn er dreißiger Jahre von verschiedenen Seiten in Angriff enommen, scheiterte aber bisher an der Schwierigkeit, on den 16 möglichen Stereoisomeren das richtige zu geinnen.



Östron (I) konnte auf durchsichtigem Wege stufenweise in die Doisynolsäure (II) mit ebenfalls 4 Asymmetriezentren übergeführt[2] und ihre Konstitution aufgeklärt[1] werden. Für die Totalsynthese solcher Säuren erwies sich als entscheidend, daß es uns gelang, von den Ketoestern der Formel III, die, in Form eines öligen Gemisches verschiedener Racemate, bereits Robinson und Walker[2] (Äthylester) sowie Bachmann und Mitarbeiter[3] (Methylester) erhalten hatten, 3 der 4 möglichen racemischen Methylester in kristallisierter einheitlicher Form zu gewinnen[4]. Das eine dieser Racemate, mit A bezeichnet (III, R = CH_3), konnten wir zur Doisynolsäure (II, rac.) aufbauen.

Im Verlauf seiner grundlegenden Arbeiten versuchte Robinson[2] bereits 1938 zum Östron zu gelangen, ausgehend vom Racematgemisch der Ketoester, die er mit Bromessigester nach Reformatzky umsetzte. Er scheiterte aber beim Versuch, aus dem verseiften Umsetzungsprodukt Wasser abzuspalten und eine entstandene Doppelbindung zu hydrieren.

Der Aufbau des Östrons gelang uns nun aber, ausgehend von unserem einheitlichen Ketoester A, indem wir abweichend von den englischen Autoren auf die Verseifung des «Reformatzky-Esters» IV verzichteten. Durch Wasserabspaltung und Hydrierung wurden daraus 2 stereoisomere, racemische Dimethylester Va und Vb vom Smp. 95–96° resp. 91–93° erhalten. Der höher schmelzende Ester sowie die entsprechende Dicarbonsäure vom Smp. 220° ergaben im Gemisch mit dem Dimethylester bzw. der freien (+)7-Methyl-marrianolsäure[5] keine Schmelzpunktserniedrigung. Der Ester vom Smp. 95–96° wurde weiterhin durch Halbverseifung, Überführung ins Säurechlorid und Diazoketon, Arndt-Eistert-Reaktion des letzteren und Verseifung der veresterten Carboxylgruppen zur homo-Dicarbonsäure VI vom Smp. 225–227° aufgebaut. Ihre Cyclisierung führte zum racemischen Östron-methyläther (VII) vom Smp. 139–140° und dessen Spaltung zum racemischen Östron vom Smp. 248–250°.

Die Trennung des Östronracemats in die beiden Antipoden geschah über das *l*-Menthoxyacetat. Die rechtsdrehende Form war in Methanol schwerer löslich. Das durch ihre Verseifung gewonnene (+)Östron erwies sich mit natürlichem Östron als identisch, wie Schmelzpunkt, optische Drehung sowie Mischschmelzpunkt der freien Verbindungen, ihrer Methyläther und *l*-Menthoxyacetate zeigten. Das totalsynthetische (+)Östron stimmt auch in der östrogenen Wirksamkeit mit dem natürlichen Hormon völlig überein.

Ausgehend vom tiefer schmelzenden Dimethylester Vb wurde in analoger Weise ein zweites Östronracemat vom Smp. 125–127° erhalten, das sich in der Verknüpfung der Ringe C und D vom ersten unterscheidet; an kastrierten weiblichen Ratten war es in Dosen von 100 γ unwirksam.

Da (+)Östron sowie sein Reduktionsprodukt Östradiol[6] genuine Follikelhormone der Ovarien darstellen[7], sind durch unsere Synthese erstmals 2 genuine Wirkstoffe der Steroidreihe totalsynthetisch zugänglich geworden. Bekanntlich gelang der Aufbau des Harnöstrogens Equi-

[1] 73. Mitteilung «Über Steroide»; 72. Mitteilung siehe Helv. chim. ta *30*, 1876 (1947).

[2] J. Heer und K. Miescher, Helv. chim. Acta *29*, 1895 (1946).

[1] J. Heer und K. Miescher, Helv. chim. Acta *28*, 156 (1945). – J. Heer, J. R. Billeter und K. Miescher, ib. *28*, 1342 (1945). – J. Heer und K. Miescher, ib. *30*, 550 (1947).

[2] R. Robinson und J. Walker, J. chem. Soc. London *1938*, 183.

[3] W. E. Bachmann, S. Kushner und A. C. Stevenson, J. Am. chem. Soc. *64*, 974 (1942).

[4] G. Anner und K. Miescher, Exper. *3*, 279 (1947); Helv. chim. Acta *30*, 1422 (1947).

[5] J. Heer und K. Miescher, Helv. chim. Acta *28*, 156 (1945).

[6] E. Schwenk und F. Hildebrandt, Naturw. *21*, 177 (1933).

[7] W. W. Westerfeld, S. A. Thayer, D. W. MacCorquodale und E. A. Doisy, J. biol. Chem. *115*, 435 (1936); *126*, 181 (1938).

lenin bereits 1939[1]. Daß es bloß 2 Asymmetriezentren aufweist und sich die Zahl der möglichen Stereoisomeren gegenüber Östron auf ¼ reduziert, erleichterte naturgemäß die Synthese.

Über die experimentellen Ergebnisse werden wir an anderem Orte ausführlicher berichten.

G. Anner und K. Miescher

Forschungslaboratorien der Ciba Aktiengesellschaft, Basel, den 9. Dezember 1947.

Summary

The total synthesis of *d*-œstrone, the natural œstrogenic hormone, is described.

[1] W. E. Bachmann, W. Cole und A. L. Wilds, J. Am. chem. Soc. *61*, 974 (1939); *62*, 824 (1940).

A propos de la polyploïdie de *Saga pedo Pallas (Orthoptera—Tettigoniidae)*

Dans une note parue ici même[1] et datée du 26 juin 1946, j'ai montré que *Saga pedo* devait être considérée comme un tétraploïde ($2N = 68$) par rapport aux espèces bisexuées *S. gracilipes* Uvar. et *S. ephippigera* Fisch. Dans le dernier paragraphe de la note précitée, j'écrivais ceci: «Notons... que les cellules de *S. pedo* ont exactement la même taille que celles des espèces bisexuées». En reprenant mon matériel de *Saga*, je me suis aperçu que j'avais commis une erreur regrettable dans le calcul des grossissements utilisés: en réalité, la fig. 3 de ma note de 1946 est agrandie 2100 fois, comme l'indique la légende, alors que les figures 1, 2, 4 et 5 ont été reproduites à un grossissement de 2500 diamètres. Les photographies que je donne ici permettent une comparaison aisée: elles montrent que l'espèce parthénogénétique, *S. pedo*, possède des éléments cellulaires plus volumineux que ceux des espèces bisexuées. En mesurant avec soin le pourtour de ces cellules, je suis arrivé aux rapports suivants:

$$\frac{S.\ gracilipes}{S.\ pedo} = \frac{1}{1{,}6}\ ; \quad \frac{S.\ ephippigera}{S.\ pedo} = \frac{1}{1{,}2}\ .$$

Or, le rapport théorique des circonférences de deux sphères dont l'une a un volume double de l'autre, est de $\frac{1}{\sqrt{2}}$, soit environ $\frac{1}{1{,}4}$. La nature polyploïde de *S. pedo* reçoit ainsi une confirmation supplémentaire et un fait énigmatique, l'identité de taille de cellules à $4N$ avec des cellules à $2N$, est reconnu erroné. Je tenais à rectifier rapidement une erreur d'autant plus grave qu'elle tendait à infirmer une loi cytologique très générale.

Le 12 septembre 1946, E. Goldschmidt a publié une note sur la formule chromosomique de *S. gracilipes* et de *S. ephippigera*. Les résultats de cet auteur confirment les miens.

R. Matthey

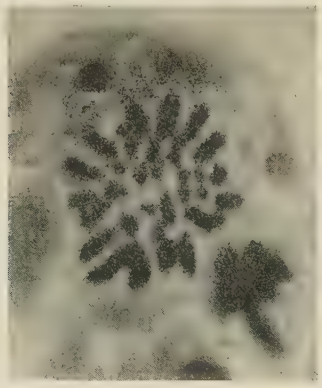
Institut de zoologie et d'anatomie comparée, Université de Lausanne, le 29 novembre 1947.

Summary

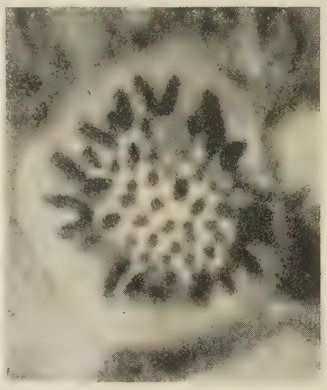
Rectifying his previous report on the polyploidy of *Saga pedo* (Exper. *2*, 260 1946), the author shows that the cells of *Saga pedo* are about twice as voluminous as those of the bisexual species *S. gracilipes* and *S. ephippigera*.

[1] R. Matthey, Exper. *2*, 260 (1946).

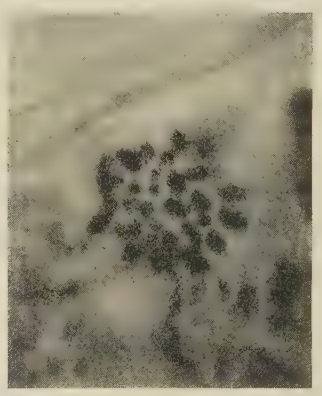
[1] E. Goldschmidt, Nature *158*, 587 (1946).



1



2



3

Fig. 1: Métaphase spermatogoniale de *S. ephippigera*. Fig. 2: Métaphase folliculaire de *S. pedo*. Fig. 3: Métaphase spermatogoniale de *S. gracilipes*. Agrandissement 1900 fois.

La formule chromosomique chez cinq espèces de Chiroptères

Abstraction faite de quelques données anciennes et sans valeur aucune (Athias, 1912; van der Stricht, 1910; Jordan, 1912; Hance, 1917), nos connaissances sur les chromosomes des Chauves-souris se résument en la brève description que Painter[1] (1925) a consacrée à un *Molossidae: Nyctinomus mexicanus*. Ce mammifère possède 48 chromosomes à l'état diploïde et présente une digamétie mâle de type $X-Y$.

Le renouveau d'intérêt que rencontre la cytologie comparée depuis la découverte de l'effet de position et des mécanismes d'évolution chromosomique (White, 1945; Matthey, 1945) nous a poussés à entreprendre une étude extensive des Chauves-souris et des Insectivores. Ce nouveau travail est donc dans la ligne des recherches que nous poursuivons depuis longtemps chez les Reptiles (Matthey, 1931—42), les Mammifères

[1] Th. S. Painter, Science *61*, 423 (1925); Am. Nat. *31*, 385 (1925).

Matthey, 1936–47; Matthey et Renaud, 1937; Renaud, 1938) et les Plécoptères (Matthey et Aubert, ous presse).

La difficulté principale d'un tel travail réside surtout dans l'obtention du matériel: la spermatogénèse se déroule, pour toutes nos espèces indigènes, de la fin de uillet au début de septembre et coïncide avec l'époque où, trop souvent, il y a dispersion des colonies repérées auparavant.

En deux années, nous avons pu recueillir des Chiroptères appartenant à dix espèces: cinq d'entre elles (*Pipistrellus pipistrellus* Schr., *P. nathusii* Keys. et Bl., *Nyctalus noctula* Schr., *Myotis mystacinus* Leisl. et *M. bechsteinii* Leisl.), capturées trop tôt ou trop tard, devront être retrouvées. Et, à ce propos, nous nous permettons d'adresser un appel à nos collègues suisses pour qu'ils veuillent bien nous adresser les Chauves-souris vivantes et mâles que le hasard pourrait leur faire rencontrer dans le courant de l'été.

Pour les cinq autres espèces, nous obtenons les résultats suivants:

Famille et espèces[1]	$2N$	N	Nombre fondam. (N.F.)
Rhinolophidae:			
Rhinolophus hipposideros Bechst.	54	27	56
Vespertilionidae:			
Barbastella barbastellus Schr. .	32	16	52
Plecotus auritus L.	(32)	16	52
Myotis myotis Bork.	44	22	50
Miniopterus schreibersii Kuhl .	(46)	23	50

[1] Les chiffres entre parenthèses n'ont pas été déterminés directement.

Ces premiers résultats sont fort encourageants: ils démontrent d'emblée l'importance des processus de fusion centrique dans l'évolution chromosomique des Chauves-souris; exprimée en «bras», la formule chromosomiale de nos cinq espèces manifeste l'existence d'un nombre fondamental peu variable. D'autre part, il y a une concordance remarquable entre la position systématique et l'équipement en chromosomes: Les *Rhinolophidae*, famille indépendante, montrent une formule chromosomique que ses nombreux éléménts acrocentriques éloignent des *Vespertilionidae*: à l'intérieur de ce deuxième groupement, l'Oreillard et la Barbastelle, genres morphologiquement très voisins, ont des formules semblables. Le Minioptère et le Murin ne diffèrent enfin que par le rapport V/I, donc par un caractère robertsonien.

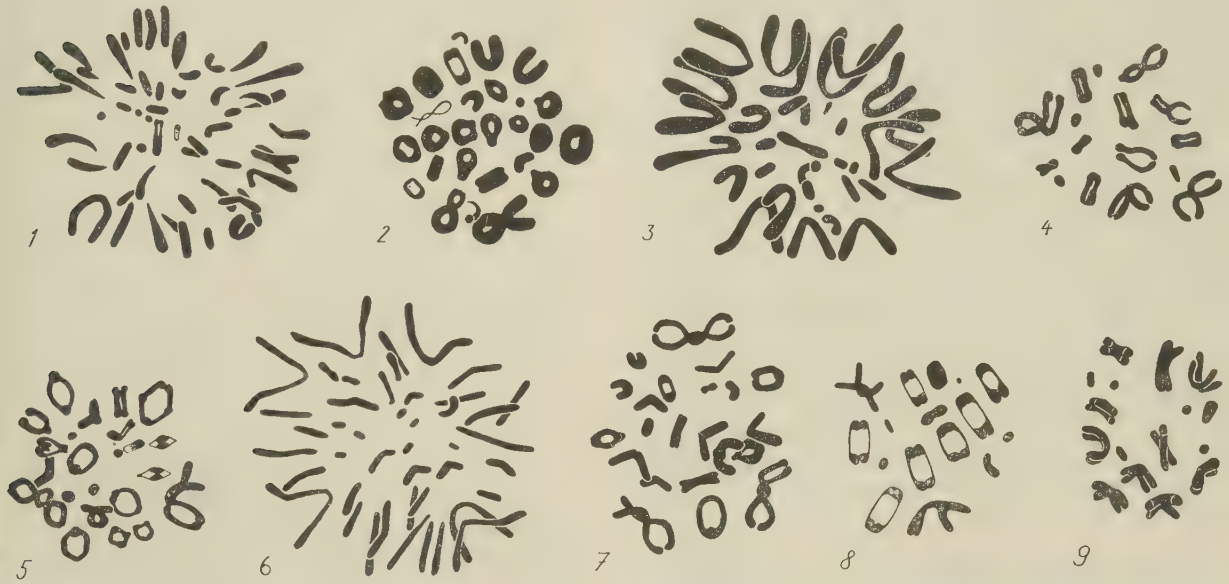


Fig. 1: *Rhinolophus hipposideros:* métaphase spermatogoniale. Fig. 2: *Rhinolophus hipposideros:* cinèse auxocytaire. Fig. 3: *Barbastella barbastellus:* métaphase spermatogoniale. Fig. 4: *Barbastella barbastellus:* cinèse auxocytaire. Fig. 5: *Miniopterus schreibersii:* cinèse auxocytaire. Fig. 6: *Myotis myotis:* métaphase spermatogoniale. Fig. 7: *Myotis myotis:* cinèse auxocytaire. Fig. 8: *Plecotus auritus:* cinèse auxocytaire. Fig. 9: *Plecotus auritus:* seconde cinèse de maturation. (Flemming, Heidenhain ou Feulgen, agrandissement 3750 fois.)

Les chromosomes sexuels sont probablement représentés par une paire X-Y. Cependant, le chromosome X est très petit, semble-t-il, et le complexe sexuel est difficile à identifier lors de la métaphase auxocytaire. A l'anaphase, préréduction et postréduction paraissent se rencontrer.

R. Matthey et R. Bovey

Université de Lausanne, Laboratoire de zoologie et d'anatomie comparée, le 1er décembre 1947.

Summary

Five species of *Chiroptera* were studied and the following numbers were found: *Rhinolophus hipposideros* Bechst. $N = 27$; *Barbastella barbastellus* Schr. $N = 16$; *Plecotus auritus* L. $N = 16$; *Myotis myotis* Bork. $N = 21$; *Miniopterus schreibersii* Kuhl, $N = 23$. Centric fusions occur in the chromosomal evolution of *Chiroptera*. Sex-chromosomes of X-Y type.

Das Elektrovenogramm (Evg) der isolierten Flughautvene (*Chiroptera*)

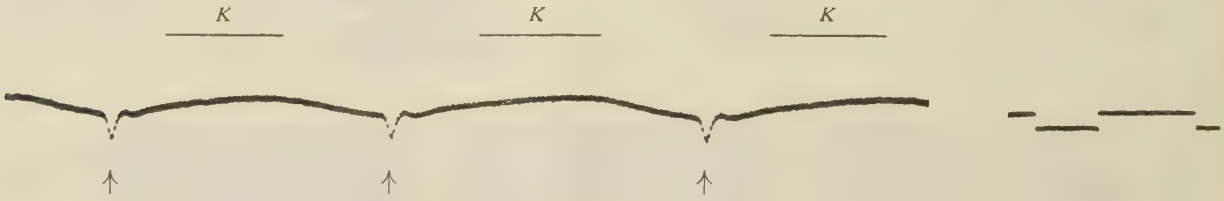
Bis heute ist es unseres Wissens nicht gelungen, von selbständig tätigen Gefäßen Aktionsströme abzuleiten. Die früher publizierten Elektroangiogramme sollen sich bei der Nachprüfung als Artefakte erwiesen haben[1]. Elektroarterio- und Elektrovenogramme, die 1940 veröffentlicht worden sind[1], wurden aus herznahen Gebieten abgegriffen und sind darum nicht beweisend. Wir haben deshalb versucht, von einem völlig isolierten und autonom arbeitenden Gefäß bioelektrische Ströme abzuleiten.

Mit Hilfe des Mikromanipulators kann man die Flughautvene präparieren und zum Venensäckchen abbinden[2]. Das Präparat gestattet die Bestimmung der Temperatur- und Druckabhängigkeit der isolierten, autonom tätigen Flughautvene an der Mikrokanüle. Es wurde weiterhin nachgewiesen, daß neben der autochthonen Automatie der intravaskuläre Dehnungsreiz zusammen mit dem Temperaturreiz das pulsauslösende Moment ist[3]. Die histologische Analyse der Venenwand ergibt ein elementares Geflecht aus spiralig angeordneten, glatten und offenbar nicht innervierten Muskelfasern[4].

Der Vorschlag liegt etwa 0,3 sec vor dem Beginn der Gefäßsystole. Er beginnt mit einer Potentialsenke, die von einem ungefähr gleich steil verlaufenden, vollständigen oder leicht überhöhten Anstieg gefolgt ist. Die nachfolgende schwache Senke ist etwas in die Länge gezogen. Die Verzögerung dürfte wohl auf das verspätete Eintreffen der eigentlichen Kontraktionswelle am Ort der Registrierungselektrode beruhen. Der nun einsetzende Potentialanstieg läuft synchron mit dem visuell überwachten und signalisierten Kontraktionsvorgang und geht meist glatt in einen der Gefäßdilatation folgenden allmählichen Potentialabfall über. Gelegentlich scheint der Erschlaffungsphase ebenfalls eine deutliche Potentialschwankung kurz vorauszugehen. Die Amplitude der Vorschlagskomponente wird bei erhöhter Pulsfrequenz vergrößert. Zwei Beispiele: wir messen bei einer Frequenz von 10 pro min 80 μV, bei einer Frequenz von 16 pro min 120 μV.

H. Mislin

Zoologische Anstalt der Universität Basel, den 5. Dezember 1947.



Elektrovenogramm *Eichkurve*

K – Kontraktionsdauer (Pulsfrequenz 16 pro Min.).
↑ – Vorschlag (Initialwelle).

Die Ausschläge der Eichkurve entsprechen je 80 μV.

An diesem Präparat lassen sich Aktionsströme ableiten, die sehr übersichtliche und elementare Verhältnisse zeigen. Der Aktionsstrom wird vom 2 mm langen Venensäckchen mit unpolarisierbaren Silberelektroden innen und außen abgeleitet. Die Innenelektrode befindet sich in der Mikrokanüle, während die Außenelektrode mit einer feinen Schwammbrücke in unmittelbarer Nachbarschaft der pulsierenden Stelle angelegt wird. Zur Registrierung des Aktionsstromes wurde ein dreistufiger, gegengekoppelter Gleichstromverstärker mit einer Braunschen Röhre am Ausgang verwendet[5]. Die Eichimpulse an der Eichkurve entsprechen 80 μV. Die Außenelektrode bildete dabei den positiven Pol.

In der vorliegenden Notiz wird nur über den photokymographisch registrierten Hauptbefund berichtet. Auf die nähere Analyse der zeitlichen Beziehungen, die zwischen Erregungsvorgang und Ablauf der Kontraktionswelle bestehen, wird verzichtet. Ebenfalls können erst in der ausführlichen Arbeit die abfallenden bzw. ansteigenden Potentialänderungen den bekannten Komponenten des Wirbeltier-Ekg zugeordnet werden.

Am Evg lassen sich bei diphasischem Aktionsstrom in der Hauptsache zwei Stromschwankungen unterscheiden: eine schneller ablaufende Initialwelle (Vorschlag) und eine stark in die Länge gezogene Nachwelle.

Herrn Prof. M. Monnier in Zürich danke ich für die freundlicherweise zur Verfügung gestellte Registrierapparatur, Herrn Dr. F. Boehm, Zürich, Herrn Dr. G. Labhardt, Basel, und Fräulein M. Kauffmann, Basel, für ihre wertvolle Mitarbeit und Hilfe bei der Registrierung des Evg.

Der Stiftung für biologisch-medizinische Stipendien danke ich für ihre Unterstützung.

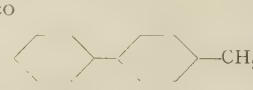
Summary

The electrovenogram of the isolated vein of the wing membrane (*Chiroptera*) exhibits two main irregularities in its diphasic action current—a fast initial wave before the beginning of the systole and a very protracted afterwave. Following this the rise and fall of potential run parallel with the contraction and dilatation of the vessels.

[1] L. Unghváry und F. Obál, Z. Kreislaufforsch. *32*, 667 (1940).
[2] H. Mislin, Helv. physiol. Acta *5*, C 3 (1947).
[3] H. Mislin, Helv. physiol. Acta *5*, C 18 (1947).
[4] H. Mislin und M. Kauffmann, Rev. suisse Zool. *54*, 240 (1947).
[5] F. Boehm, B. Sigg und M. Monnier, Helv. physiol. Acta *2*, 481 (1944).

Notizie preliminari sull'azione fitodinamica dell'acido difenililacetico sulla pianta del tabacco

Durante un gruppo di recerche sul dosaggio della attività dei discerbanti chimici selettivi abbiamo ottenuto dei risultati particolarmente interessanti usando l'acido difenililacetico



Questo acido, che dallo spoglio della letteratura[1] non ci risulta essere mai stato considerato come auxinosimile,

[1] Per la bibliografia fondamentale sull'argomento vedi: Fz. A. Gilbert, Chem. Rev. *36*, 199 (1946), e vedi pure: R. Ciferri, Riv. Soc. Tosc. Ortic. *31*, 11 (1947).

	Peso medio totale		Peso medio radice			Peso medio fogliame			Peso medio del fusto			mmg di acido difenililacetico per pianta
	in g	indice	in g	indice	% del peso medio totale	in g	indice	% del peso medio totale	in g	indice	% del peso medio totale	
A*	687	*100*	73	*100*	10,6	384	*100*	56,0	230	*100*	33,4	0,00
B	1743	*253*	150	*206*	8,6	980	*255*	56,2	613	*267*	35,2	1,75
C	1390	*202*	213	*292*	15,3	695	*181*	50,0	482	*210*	34,7	2,00
D	1290	*187*	163	*223*	12,6	673	*175*	52,2	454	*197*	35,2	2,25
E	1551	*224*	185	*254*	11,9	822	*214*	53,1	544	*236*	35,0	2,50
F	1330	*193*	132	*181*	9,9	723	*188*	54,3	475	*206*	35,8	2,75

* Testimoni.

enne in primo tempo sperimentato al saggio di Macht ggermente modificato[1]. I risultati, tuttora inediti, di uesto gruppo di ricerche saranno pubblicati *in ex-nso* fra breve; in ogni modo possiamo anticipare che, entre per concentrazioni relativamente alte l'acido di-nilililacetico blocca la crescita del germinello di *Lupinus bus*, a concentrazioni bassissime (qualche parte per ilione, o meglio frazioni di p.p.m.) esplica una netta zione fitodinamica positiva, dando luogo ad indici fito-ssici superiori a cento.

Dati questi risultati, abbiamo ritenuto opportuno ese-uire delle esperienze sul terreno usando come «test» la anta del tabacco tipo «Burley» («Giuseppina»). Ven-ero approntati perciò sei lotti di piantine da seme con e foglie, trapiantate ciascuna in vasi da 7,5 centimetri diametro. La prima serie, di nove piante, venne tenuta me controllo e le altre serie, di sei piante ciascuna, rono sottoposte all'azione di una soluzione acquosa di ido difenililacetico alla concentrazione di 10 p.p.m.; quantità di liquido usato per ciascuna pianta fu di cm³, distanziando ogni trattamento di 48 ore ed in-affiando ogni vaso accuratamente con una pipetta in odo che il liquido non toccasse le foglie. Le quantità tali che furono somministrate ad ogni pianta delle di-erse serie sono:

rie A nulla (testimonio);
rie B 75 cm³ in tre riprese, equivalente a mmg 0,75 di acido difenililacetico;
rie C 100 cm³ in quattro riprese, equivalente a mmg 1,00 di acido difenililacetico;
rie D 125 cm³ in cinque riprese, equivalente a mmg 1,25 di acido difenililacetico;
rie E 150 cm³ in sei riprese, equivalente a mmg 1,50 di acido difenililacetico;
rie F 175 cm³ in sette riprese, equivalente a mmg 1,75 di acido difenililacetico.

l quattordicesimo giorno, cioè alla fine del trattamento vaso, le piantine dei lotti irrigati mostravano uno iluppo sensibilmente superiore a quello delle piante di ntrollo. Al ventesimo giorno dall'inizio dell'esperienza tte le piante vennero trapiantate in piena terra e uelle delle parcelle B, C, D, E, F furono irrorate con cm³ per pianta di soluzione di acido difenililacetico 20 p.p.m., versati attorno al fusto in un solchetto rcolare distante pochi centimetri.

La differenza di sviluppo fra le piante trattate e quelle stimoni fu nettissima dopo circa tre mesi. Lo stesso mportamento rispetto ad una deficenza d'acqua di rigazione lasciava indovinare nelle piante trattate uno iluppo radicale notevolmente superiore. Raccolti, tutti i esemplari vennero pesati, distinguendo il peso delle glie da quello del fusto e delle radici. La seguente tabella dà il peso medio delle piante di ciascuna parcella, il peso medio percentuale di ogni singola parte rispetto al totale ed inoltre un *indice di sviluppo* calcolato paragonando le medie delle piante trattate con le medie dei testimoni considerate eguali a 100.

I dati sono per ora semplicemente preliminari; non possono certamente essere considerati estremamente significativi dato il numero esiguo di esemplari usati, troppo basso per poter arrischiare conclusioni definitive. Riteniamo però di non essere troppo lontani dal vero in quanto, nonostante la grande variabilità di crescita del tabacco, i pesi delle piante trattate furono per *tutti* gli esemplari superiori ai pesi di *tutte* le piante testimonio.

L'acido difenililacetico ha indotto nella pianta di tabacco uno sviluppo di molto superiore al normale, con certe dosi addirittura doppio, benché non si possa dire quale sia stata la dose ottimale. È evidente una maggiore robustezza degli organi di sostegno; in modo particolare l'apparato radicale appare più sviluppato sia come lunghezza sia come numero di radici principali, senza che però questo autorizzi a considerare l'acido difenililacetico come sostanza rizogena, almeno alla concentrazione da noi usata.

Concludendo, si è potuto dimostrare che l'acido difenililacetico può essere considerato come una sostanza auxinosimile che, come tale, mentre ad alte concentrazioni inibisce lo sviluppo dei vegetali (Lupino bianco), a diluizioni molto spinte agisce in senso fitodinamico positivo.

Numerose esperienze sono ancora in corso e ci permetteranno una più esatta determinazione della attività del composto in oggetto e la sua comparazione con altri fitormoni sintetici.

F. Bertossi e R. Ciferri

Pavia, Istituto botanico dell'Università, 24 settembre 1947.

Summary

The application of diphenylilacetic acid has shown favorable effects on the growth of tobacco plants. Solutions containing 10 p.p.m. and 20 p.p.m. produce, in weight, an almost double growth in treated plants in comparison with the controls. Diphenylilacetic acid can be considered as a growth-promoting substance. The data are not definite.

[1] F. Bertossi e R. Ciferri, Atti Ist. Bot. Lab. Critt., ser. V, *3* 947).

The Physiological Importance of the Interaction of Oxygenation between the Heme Groups of Hemoglobin

The oxygenation of hemoglobin (Hb) is a reaction of the type

$$PA_{i-1} + A \rightleftarrows PA_i \qquad (1)$$

which is frequent among the reactions of the proteins.

According to Klotz's[1] notation r, the ratio of the moles of bound substance A to the moles of the total protein P, is expressed by the equation

$$r = \sum_{i=1}^{n} i\,(A)^i \prod_{j=1}^{i} K_j \Big/ \left[1 + \sum_{i=1}^{n} (A)^i \prod_{j=1}^{i} K_j\right] \qquad (2)$$

which, for the case of the oxygenation of Hb, is an abbreviation of Adair's[2] relation. Equation (2) is of little use if no information on the value of the equilibrium constants is available. Several authors have tried to establish the ratio K_{j-1}/K_j between two successive equilibrium constants. Klotz[3] states that if the binding of the first A-molecule does not affect the binding of the second, except by diminishing a statistical probability (less active groups available), the equation

$$\frac{1}{r} = \frac{1}{n}\frac{K}{A} + \frac{1}{n} \qquad (3)$$

is valid, and a plot of $1/r$ versus $1/(A)$ gives a straight line.

The line a in Fig. 1 fits the experimental data of Ferry and Green[4] for horse Hb at 25 °C, p_H 6·77. The abscissa represents the value of $1/p$ or the reciprocal of the O_2-pressure, a magnitude proportional to $1/(A)$. The line b represents how conditions would be if there were

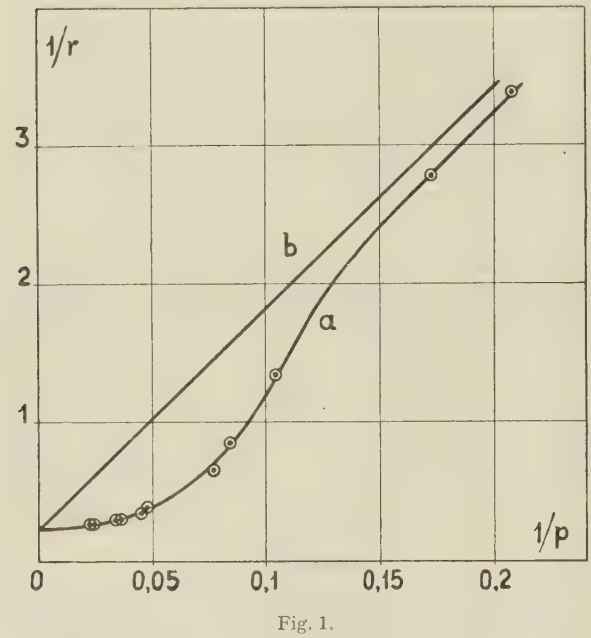


Fig. 1.

no change of interaction between the heme groups. Line b has been drawn to fulfil the following requirements: (a) it follows equation (3) and tends therefore to 1/4 when $1/p$ tends to zero; (b) it approaches the experimental curve for $1/p$ tending to infinity, since no interaction is to be expected for the first step of oxygenation. The following conclusions may be drawn from Fig. 1:

(a) in comparison with the binding of organic ions by a protein as studied by Klotz, the oxygenation of Hb gives curves lying at the right side of the b- (or statistical) line, whereas Klotz's reactions give curves lying at the left side. This fact means that

(b) in both cases the successive equilibrium constants are not determined solely by statistical factors, but

(c) the binding of an ion by a protein hampers the successive reaction, whereas the binding of an O_2-molecule by Hb facilitates the binding of a second O_2-molecule. This statement is in agreement with Pauling's[1] theory of the oxygenation of Hb.

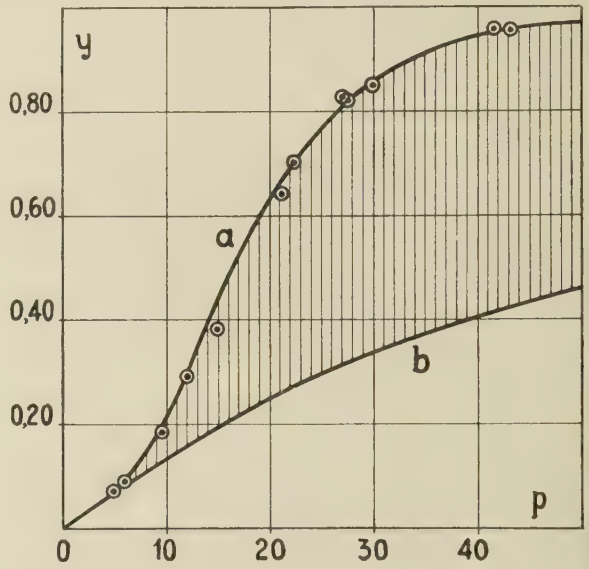


Fig. 2.

Fig. 2 represents the dissociation curve a as experimentally determined (same data as in Fig. 1) and b as it would be if no interaction were present. It may be stated that:

(a) if no interaction were present the curve would be a hyperbola, as it was to be expected, since equation (3) is easily transformable into Hueefner's well-known equation;

(b) the striped area of Fig. 2 gives a measure of the interaction, and shows evidence of the physiological importance of this effect.

It is noteworthy that in cases in which the pigment has a molecular weight of half its normal weight (Hb of *gastrophilus*[2], horse Hb in 6·66 M urea[3], myoglobin[4]) the dissociation curve is of the b- (or merely statistical) type. An explanation is possible if we imagine the Hb molecule as composed of two globin units with heme groups interacting by pairs of different units, as in the schema

A globin B

C globin D

where A, B, C, D indicate the position of the heme groups; the distances separating the heme groups are such, that only interactions AC and BD are possible. If an agent (as represented by the dotted line of the schematic configuration) splits the Hb molecule into its globin units, no interaction is possible any longer, and the dissociation curve becomes hyperbolic.

E. Boeri

Physiological Laboratory, University of Naples, October 10, 1947.

[1] I. M. Klotz, J. Am. chem. Soc. *69*, 1609 (1947).
[2] G. S. Adair, J. biol. Chem. *63*, 529 (1925).
[3] I. M. Klotz, F. M. Walker, and R. B. Pivan, J. Am. chem. Soc. *68*, 1486 (1946).
[4] R. M. Ferry and A. A. Green, J. biol. Chem. *81*, 175 (1929).

[1] L. Pauling, Proc. Nat. Acad. Sci. *21*, 186 (1935).
[2] D. Keilin and Y. L. Wang, Biochem. J. *40*, 855 (1946).
[3] E. Boeri and A. Vescia, Arch. Néerl. Physiol. *28* (1947), in press.
[4] H. Theorell, Biochem. Z. *268*, 64 (1934).

Zusammenfassung

Eine theoretische Betrachtung der Gleichungen von Klotz bestätigt folgendes: a) die O_2-Aufnahme von Hämoglobin ist nicht nur durch statistische Faktoren bedingt; b) die Bindung der ersten O_2-Moleküle erleichtert die Bindung weiterer Moleküle. Das steht in Übereinstimmung mit der Annahme von Pauling. Die physiologische Bedeutung dieses Phänomens wird graphisch dargestellt. Es wird eine Hypothese vorgeschlagen, die das Auftreten von hyperbolischen Dissoziationskurven unter bestimmten Bedingungen zu erklären vermag.

Zum Problem des Stoffwechsels der Brenztraubensäure *in vivo*[1]

Die Brenztraubensäure (BTS) verdient unter den Zwischenprodukten des Kohlehydratstoffwechsels besonderes Interesse. Unsere Kenntnisse über ihre Umsetzung im lebenden Organismus sind lückenhaft, vor allem sind die Ansichten über die bei ihrer Verwertung beteiligten Hormone und Fermente widersprechend. Systematische Untersuchungen über den BTS-Haushalt beim normalen und beim alloxandiabetischen Kaninchen haben zu neuen Resultaten geführt, die im folgenden kurz zusammengefaßt sind.

1. Belastet man gesunde Kaninchen mit 0,25 g/kg Na-Pyruvat intravenös, dann kommt es zu einem steilen Anstieg der Blut-BTS, der aber nur von kurzer Dauer ist. Nach 60 Minuten ist der Nüchternwert fast regelmäßig wieder erreicht. (Die Normalwerte der BTS für das Kaninchen liegen zwischen 0,5 und 2,5 mg%.) Eine längere Anstauung von BTS im Organismus wird also offenbar durch das Eingreifen von Regulatoren, die die BTS-Beseitigung steuern, vermieden.

2. Nimmt man eine gleich große BTS-Belastung bei einem Tier vor, bei dem durch Alloxaneinspritzung ein stationärer Diabetes erzeugt worden ist, dann unterscheidet sich die Blut-BTS-Kurve von der normalen durch einen meist noch höheren Anstieg und vor allem durch einen verzögerten Abfall zum Ausgangsspiegel. Nach 60 Minuten liegt die Blut-BTS regelmäßig über dem Nüchternwert, diesen oft um ein Mehrfaches übersteigend (Nüchternwerte beim stationären Alloxandiabetes: zwischen 1,3 bis 4,3 mg% BTS). Beim Alloxandiabetes besteht also eine eindeutige Verwertungsstörung für exogen zugeführte BTS.

3. Wird bei der Erzeugung des Diabetes eine höhere Alloxandosis verwendet, dann entwickelt sich beim Kaninchen ein Zustand von Glykosurie und Hyperglykämie progredienter Natur, d.h. die Tiere geraten unter fortlaufender Verschlechterung der Stoffwechsellage in einen dem menschlichen Coma diabeticum analogen Zustand mit stark verminderter Alkalireserve und Ketosis. Wir konnten nachweisen, daß bei diesem progredienten Typus des Alloxandiabetes die endogene Bildung der BTS stark vermehrt ist. Die zunehmende Hyperpyruviämie ist für diese Diabetesform geradezu charakteristisch. An der Säurevergiftung des Organismus im Präkoma und Koma ist also die BTS in nennenswertem Maße beteiligt.

4. Angesichts der beiden Befunde von Verwertungsstörung exogen zugeführter und von Anstauung endogen gebildeter BTS erhebt sich die Frage nach den Regulatoren dieser Stoffwechselsubstanz, wobei der Gedanke an das Insulin am nächsten liegt. Entgegen verschiedentlich in der Literatur beschriebenen Befunden haben wir keinerlei Beeinflussung des Blut-BTS-Gehaltes durch Insulin feststellen können. Der Nüchtern-BTS-Blutspiegel bleibt unbeeinflußt, der verzögerte Ablauf der Belastungskurve beim diabetischen Tier wird nicht verändert, die endogene Hyperpyruviämie im Präkoma und Koma reagiert nicht auf das Pankreashormon. Insulin ist also im BTS-Stoffwechsel kein Regulator.

5. Die Rolle des Vitamin B_1 als Bestandteil der Carboxylase ist aus Fermentarbeiten hinreichend bekannt. Das Vitamin liefert in Form der Aneurinpyrophosphorsäure ein Coferment, die sogenannte Copyruvodehydrase. Mangelzustände an Vitamin B_1, wie sie bei der Beriberi vorliegen, führen zu erhöhtem Blut-BTS-Gehalt. Diese allgemein bekannten Tatsachen legten es nahe, die Einwirkung des Aneurins auf die pathologische BTS-Kurve des alloxandiabetischen Tieres im akuten Belastungsversuch zu prüfen. Das Ergebnis war eindeutig: es gelingt, die diabetische BTS-Kurve durch Zusatz von Aneurin zu normalisieren, d.h. der Ausgangswert für BTS wird nach 60 Minuten wie beim Normaltier erreicht, wenn man eine größere Aneurindosis 1½ bis 2 Stunden vor der Pyruvatbelastung subkutan spritzt. Damit ist der Beweis für das akute Eingreifen des Aneurins in den BTS-Stoffwechsel erbracht.

Die Beseitigung der endogenen Hyperpyruviämie bei progredientem Alloxandiabetes ist ein eigenes Problem. Im Zustand des Präkomas und Komas handelt es sich um einen mehr oder weniger vollständigen Zusammenbruch der wichtigsten Regulatoren und ihrer Stoffwechselsubstrate, so daß die Wiederherstellung des Gleichgewichts nicht ohne weiteres von einem Angriffspunkt aus erreichbar ist. Es ist uns gelungen, auch diese Störung des BTS-Stoffwechsels zu kompensieren, worüber wir in einer nachfolgenden Mitteilung berichten werden.

S. Markees und F. W. Meyer

Medizinische Universitätspoliklinik Basel und Pharmakologisches Laboratorium der Firma F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel, den 5. Dezember 1947.

Summary

Following intravenous injection of pyruvic acid (PA) in the form of the sodium salt in the normal rabbit the level of PA in the blood rises, falling again to the initial level after 60 minutes. In the case of the alloxandiabetic animal the elimination of PA administered in equal doses is markedly retarded. If animals are used that suffer from a progredient alloxan diabetes leading to death in coma, an increased endogenous hyperpyruviæmia can be demonstrated. Insulin plays no part in the regulation of PA metabolism; through the application of aneurin, however, one succeeds in enabling the organism to make use of PA. A separate report will deal with the complex relations holding in endogenous hyperpyruviæmia in coma.

[1] Der Großteil der Experimente wurde mit Unterstützung der Roche-Studienstiftung durchgeführt.

Lethal Effect of Cosmic Ray Showers on the Progeny of Animals

The biologic effect of cosmic ray showers on the fertility of Angora rabbits and white mice was studied. Similar experiments with domestic rabbits were previously performed by J. Eugster and V. F. Hess[1] on the

[1] J. Eugster and V. F. Hess, Die Weltraumstrahlung und ihre biologische Bedeutung (Verlag Orell Füßli, Zürich 1940), p. 139.

Hafelekar at a height of 2,340 m above sea-level. In view of the fact that in several points our findings differ from those of the aforementioned authors, it seems worth while to summarize briefly their results.

Eugster and Hess kept five test animals in cages covered with 18 mm of lead and four control animals within the same locality, but without lead covering. W 4 bore without lead seven living young, whereas, when put under the influence of the showers, she remained sterile during six months, although repeatedly copulated. W 2, kept for eight months under lead, remained sterile after repeated copulation; copulated without lead she gave birth to three living young, thereafter she was still kept for five months without lead. The autopsy revealed degeneration of the ovary. B 2, after being kept for three months under lead, delivered eight dead, undeveloped embryos; after that she remained sterile for the following seven months, albeit repeatedly copulated. Histological analysis showed symptoms of cystic degeneration of the ovary. W 1, after being kept for five months under lead delivered five dead, degenerated young, however, at autopsy her ovary proved to be normal. B 1, kept for four months under lead, after being removed from the influence of the showers, remained sterile. The control animals were kept without lead: C 2 bore four living young, and the autopsy of C 3, C 4, and C 5 revealed normal ovaries. There is no indication to be found concerning the offspring of these last three animals. Eugster and Hess believe that cosmic ray showers produce in the females (according to histologic evidences in their ovaries) such permanent changes as result either in sterility or in inability to bear normally developed, healthy progeny. Apart from the small number of test animals—emphasized also by the authors—we should like to draw attention to several facts essential for the interpretation of the results.

First of all, the conditions in the altitude of Hafelekar were so abnormal that, judging from the losses in the animals' weights, an acclimatization of several months was necessary.

The inference that the degeneration in the ovaries of the animals is due to cosmic ray showers, i.e. connected with the reported lethal and sterilizing effects, is objectionable, because out of the three animals kept under lead and dissected, only two (W 2, B 2) showed such degenerations, and one of these (W 2) was even able to deliver three well-developed living young, prior to the autopsy; the third animal (W 1), which gave birth to degenerated and dead offspring, had a quite normal ovary. A permanent morbid change in the females is thus only supported by the lethal and sterilizing effects.

The lethal effect itself is questionable, on account of the circumstance that, in regard to two rabbits (B 2, W 1), it cannot be decided whether they were at all apt to have living progeny on the Hafelekar, and further, because the control experiments in which the birth of living offspring and the two still-births under lead occurred unfortunately were made at different seasons: the still-births happened in autumn, whereas the living young were delivered, except in the case of C 2, in the spring.

On the other hand, the sterility found is rendered doubtful by the circumstance, known to every breeder, that the females are fertilizable only at certain periods (œstrus), which is recognizable by the swollen genitals marked with dark red veins; and further that even the males are not always inclined to copulation. In order to ensure copulation, it is customary to place the male previously at such a distance that he cannot smell the scent of the female and to feed him with germinated rye or celery. After coupling the two animals the copulation must take place immediately, otherwise it is a sign that the animals are not in a suitable condition, and the act should be tried once more after a lapse of several days. These circumstances surely play an even more important role, if already the other conditions are abnormal. The fact that the animals were kept for several days in the same cage indicates that neither the œstrus of the females, nor the occurrance of copulation were sufficiently controlled; consequently, we are not faced in all the apparent cases of sterility with a real lack of fertility.

It seemed, therefore, worth while to reproduce the experiments, giving special care to the aforementioned circumstances. The experiments were performed in Budapest (110 m above sea-level) in an Angora rabbit farm under state control, where several hundred rabbits were bred. 16 mm of lead was placed above the one inch thick wooden cover of two of the usual cages, and the control animals were kept within the same locality, only at about 2 m distance from the lead layers. The control animals were always sister females, belonging to the same litter, and they were copulated with the same male as the test animals, with a delay of only one day; they gave birth in every case to normally developed young. The ensuing copulation was on all occasions watched personally by the head of the farm, who took also great care that the animals were fed with the same kind and quantity of fodder.

Experiments with Angora rabbits. Test animal No. 1 kept under lead was delivered after a normal gestation of 30 days of one living and three days later of six dead embryos, which perished at quite different stages of the embryonic evolution. The same test animal after a second copulation under lead remained sterile; when removed from the influence of the showers after copulating with the same male, she dropped a living litter of eight.

Test animal No. 2 begot without lead four living, thereafter, put under lead, she dropped five dead and again without lead eight living young.

Test animal No. 3 after copulating remained first, as well without lead as under lead, sterile, after a second copulation under lead she gave birth to nine dead young. Copulating again under lead and removed from the influence of the showers only for the day of the delivery, she gave birth to seven living young. One of these—which was thus kept, except on the day of its birth, constantly under lead—was used as

Test animal No. 4. It was delivered under lead of four dead and without lead of five living young.

Test animal No. 5 begot without lead five living young, after copulating and being kept for the whole time of its pregnancy without lead, was put under lead only the day of the delivery and dropped six dead young.

The results are summarized in the following table.

It should be stressed that, besides the test and control animals, twenty other rabbits were kept within the same locality; the fertility of all these animals proved to be normal, and they begot during the time of the experiments healthy, living offspring.

Out of the data collected in the table we may infer that neither sterility, nor a permanent change in the females, in any case not a change which would affect a later delivery, seems to prevail. As may be seen, out of the seven copulations under lead only in two cases sterility was observed, and the animals removed from the influence of the showers always delivered a living litter. Conversely, there seems to be good evidence for

	Without lead	16 mm Pb	Without lead
No. 1	—	1 living, 6 dead sterile	8 living
No. 2	4 living	5 dead	8 living
No. 3	sterile	sterile	7 living
		9 dead	(removed from lead for delivery)
No. 4	—	4 dead	5 living
No. 5	5 living	6 dead (under Pb only for the delivery)	

the existence of a lethal effect, resulting most probably from the influence of cosmic ray showers upon the embryos. However, even these unambiguous results obtained in every single case investigated are not yet convincing. It seemed, therefore, necessary to investigate this lethal effect upon a greater number of animals, thus enabling a statistical check.

Experiments on white mice. The experiments were performed in the wooden tower laboratory of the institute. The animals were kept in a glass box of 60×130 cm basis and 40 cm height. Electric heating maintained a temperature of 25–30 °C within this box. The fresh air entered near the bottom of the box and could escape under the glass cover. The animals were installed immediately below the glass cover in 14 seperate cages with aluminium walls, asbestos base, and covered with a wire net. Lead of 16 mm thickness was placed externally upon the glass box at a height of 10 cm above the animals.

First set: Here our aim was only to prove anew the effect of the showers. All the animals were kept under lead. 23 animals delivered in the course of three months 139 living, and 14 dead young; from these 139 animals 99 perished within a week after their birth. The mean loss was 82 ± 7 p.c.

The computation of the error was performed by reckoning for every animal seperately the ratio of the still-births plus dead young to the sum of all the animals within the litter. The standard deviation from the mean value of the 23 cases were then computed for each individual case, and with the method of the least squares we thus determined the mean error of the mean value.

Second set: The lead was now removed from one half of the box, thus only about half of the animals were kept under lead, the other half, in quite similar conditions and upon identical diet, were kept without lead, but they were covered with a slate layer instead of lead in order to secure identical illumination. Within three months 21 animals kept under lead delivered 98 living and 4 dead offspring, besides two cases in which we were not able to count the number of the dead young. Out of the 98 living young 64 perished within a week after their birth, the mean loss being

$$71 \pm 6 \text{ p.c.}$$

This figure is in good agreement with that of the first set.

Conversely, out of the animals kept without lead, 16 delivered 93 living and 1 dead young in the course of the same three months. 23 of the 93 died within a week after their birth, the mean loss was:

$$22 \pm 9 \text{ p.c.}$$

The loss difference:

$$49 \pm 11 \text{ p.c.}$$

represents the lethal effect due to the lead layer. The effect can be considered as real, since it is greater than four times its mean error. It is worthy of mention that, whereas all the rabbits begot under lead dead offspring, mice delivered mostly living progeny, which, however, perished within a short time after their birth. The birth rate was slightly higher without lead than with lead.

Since the intensity of cosmic ray corpuscules is practically the same with or without lead, the results, seem to indicate that the biologic effect must be attributed to the showers. (16 mm of lead is the most efficient thickness for generating cascade showers.) The difference in the biologic effect of the shower radiation compared to that of radioactive sources might be due to the following causes:

(1) From radio-active sources the heavily ionizing α- and β-rays are not able to penetrate into deeper layers of the body, and γ-rays or X-rays produce only about 100 ions per cm path in the body, hence, even when strong sources are used, ionization within a cell will not be very important. Conversely, a cosmic ray particle can penetrate through the whole body and produces there about 100,000 ions per cm of its path.

(2) The effect of radio-active radiation consists merely in ionization, a process which is reversible in consequence of recombination, whereas on account of their tremendous energies the cosmic ray particles can initiate irreversible nuclear transformations within a cell.

(3) In the core of a shower the particle density may be so great that a single cell is hit simultaneously by more than one ray.

It would be of interest to investigate whether the effect remains the same for showers created in iron instead of in lead; in which case it would be possible through magnetization of the iron to spread out the particles in the core of the shower over a wider area and consequently to examine the influence mentioned in point 3 separately. We should like to emphasize the importance of investigating with a sufficiently large number of individuals whether a permanent morbid change does occur in the females or not, and further whether the offspring born under lead are not more resistent against cosmic ray showes, i.e. whether a certain adaptation does not take place. Experiments with this purpose are now in progress.

Acknowledgements should be expressed to the head and owner of the Angora rabbit farm, Mrs. E. Fabinyi, for much advice and extreme thoughtfulness, which were a great help in our Angora rabbit experiments.

J. Barnóthy and M. Forró

Institute for Experimental Physics, University of Budapest, July 2, 1947.

Zusammenfassung

Angorakaninchen und weiße Mäuse wurden unter einer Bleischicht gezüchtet, deren Dicke (16 mm) die günstigste für die Auslösung von kosmischen Kaskadenschauern ist. Die Versuche ergaben einen Überschuß der Totgeburten und der Verluste innerhalb der ersten Woche von 49 ± 11 % gegenüber den unter gleichen Bedingungen gehaltenen Kontrolltieren. Eine dauernde Beschädigung der Muttertiere sowie eine sterilisierende Wirkung scheint nicht vorzuliegen.

Urinary Excretion of Water-soluble Vitamins and Phosphorylation

Against the value of test doses applied for the estimation of vitamin deficiencies, the following objection can

be made: after several thiamin or riboflavin test doses have been administered to the organism, the urinary excretion after the test injections does not increase, but changes irregularly. After the vitamin has been given for a long time, the excretion gradually diminishes.

In order to explain this behavior, we had to examine on what the excretion of water-soluble vitamins depends in the healthy, well-supplied organism.

For the present we observed the excretion of riboflavin in normal rats[1]. Riboflavin, as a component of the yellow ferment, is used in the tissues in phosphorized form. In one series of experiments we poisoned the rats with monojodacetic acid in order to paralyze phosphorylation, in another series we gave adenosin triphosphate (Atriphos) in order to increase the phosphorylation rate.

The excretion of riboflavin decreased in the first group of rats and increased in the second group. Thus phosphorylation influences the excretion of administered riboflavin in that it raises the excretion when increased and decreases it when depressed.

Decreased excretion after several injections of riboflavin in the normal organism is probably caused by the decrease and perhaps by the exhaustion of phosphorylation. As regards the exhaustion of the phosphorylation process in case of sugar in the kidney, Ruszнyák *et al.*[2] already have given data.

Administration of dextrose to rats decreased the urinary excretion of riboflavin. We observed the same after thiamin. Both materials are phosphorylated when used in the tissues. We suppose that after administration of dextrose or thiamin, the mechanism of phosphorylation was sooner exhausted.

The urinary excretion of riboflavin and thiamin depends first of all on the state of saturation of the organism, while in a normally supplied organism it rather depends on the phosphorylation. The more vitamin undergoes phosphorylation in the body, the more appears in the urine, and the lower is the level of phosphorylation, the smaller is the urinary excretion.

The fate of the not excreted and, according to our experiments, unphosphorylated riboflavin in the organism is quite unexplained. Experiments in which we determine the riboflavin content of several organs and of the whole body of rats after administration of this vitamin are going on.

I. Magyar

I. Medical Clinic of the Pázmány Péter University of Budapest, September 18, 1947.

Zusammenfassung

In einem genügend mit Vitaminen versorgten Organismus hängt die Ausscheidung der wasserlöslichen Vitamine von der Phosphorylierung ab. Bei Versuchen an Ratten zeigte sich folgendes: Wird die Phosphorylierung durch Monojodessigsäure gehemmt, so wird weniger Riboflavin ausgeschieden. Nach Darreichung von Adenosintriphosphat erscheint dagegen mehr Riboflavin im Harn. Die Verminderung der Ausscheidung nach Dextrose oder Thiamin ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß diese Substanzen den Mechanismus der Phosphorylierung in größerem Ausmaß in Anspruch nehmen.

[1] Detailed data in Acta medica Hungarica, in print.

[2] St. Ruszнyák, M. Földi, and G. Szabó, Exper. *3*, 420 (1947).

Prévention de l'œdème aigu expérimental du poumon par un antihistaminique de synthèse dérivé de la thiodiphénylamine[1]

L'œdème aigu du poumon est dû à une transsudation brusque de sérosité dans les alvéoles et les tissus interstitiels du poumon à travers les capillaires pulmonaires. Cette sérosité mêlée à l'air remonte vers les voies respiratoires supérieures et, est expectorée sous forme de spume sanguinolente. L'œdème du poumon se distingue des autres œdèmes de l'économie par son apparition soudaine, son évolution rapide et éventuellement sa résolution complète.

Il est aisé de provoquer un œdème aigu du poumon chez le lapin en lui injectant une dose suffisante d'adrénaline par voie intraveineuse[2].

Aussitôt après l'injection d'adrénaline, la pression artérielle monte verticalement à 20–22 cm/Hg et s'y maintient 2 à 3 minutes. Le lapin présente une apnée de 20 à 30 secondes après quoi la respiration redevient régulière. Au bout de 5 à 6 minutes, la pression revient à son niveau initial tout en continuant sa courbe descendante; la respiration devient dyspnéique et cette dyspnée s'aggrave rapidement. L'animal s'affaisse, il est cyanosé, une crise convulsive annonce l'exitus; une écume rosée apparaît aux narines et à la bouche; la pression est voisine de 0 et l'animal meurt, 10 minutes environ après l'injection.

L'autopsie révèle un cœur très dilaté, des poumons énormes, très œdématiés, non collabescent à l'ouverture du thorax. Ils sont couverts sur de grandes surfaces de plages hémorragiques.

A la dose de 0,25 mg/kg d'adrénaline, 60% de nos lapins (17 sur 27) ont présenté ce tableau et ont succombé au plus tard 10 minutes après l'injection. Les autres ont survécu plusieurs heures. Tous ont présenté à l'autopsie des lésions nettes d'œdème pulmonaire.

Or nous avons constaté que l'injection préalable de 20 mg/kg de N-diméthylamino-2-propyl-1-thiodiphénylamine (3277 RP) empêche d'une manière saisissante l'apparition de ce syndrome extrêmement grave dans la totalité de nos essais (portant sur 15 animaux).

Les lapins ayant reçu une injection hypodermiqued e 20 mg/kg de 3277 RP présentent dans les trente minutes qui suivent quelques troubles banaux: légère ataxie ou atonie musculaire. Or, si nous injectons alors la même dose d'adrénaline, 0,25 mg/kg, nous constatons que son effet hypertensif est intégralement conservé. L'apnée habituelle est moins prononcée. Cependant la dyspnée ne se produit pas et les animaux ne manifestent pas de tirage respiratoire ni de cyanose. La pression descend progressivement vers la normale ou un peu au dessous de sa valeur initiale et s'y maintient. L'animal détaché présente quelques troubles ataxiques dus au 3277 RP et se rétablit complètement dans les heures qui suivent.

Les animaux traités par l'antihistaminique montraient une augmentation de volume du cœur comparable aux témoins. Par contre, leurs poumons collabaient normalement et ne présentaient que dans de rares exceptions une légère augmentation de poids. C'est ainsi que le poids moyen des poumons des témoins est de 32 g tandis que celui des poumons des lapins traités est de 13 g, le poids moyen des poumons d'un lapin normal étant de 10 à 12 g environ.

[1] B. N. Halpern, Arch. int. Pharmacol. Thér. *74*, 314 (1947); J. Allergy *18*, 263, 272 (1947).

[2] Hallion et Nepper, J. Physiol. Pathol. gén. *13*, 887 (1911).

Par quel mécanisme le 3277 RP exerce-t-il cette action rotectrice ?

Il a été établi expérimentalement que dans le déterinisme de l'œdème aigu du poumon le facteur tension-el ne joue qu'un rôle accessoire alors que le degré de la erméabilité capillaire revêt un rôle de grande impornce. Or, STAUB[1] a montré récemment que, chez l'homme put au moins, l'injection d'adrénaline s'accompagne 'une décharge d'histamine dont le taux s'accroit dans plasma. On peut donc admettre que cette libération 'histamine entraîne un accroissement de la perméabilité apillaire au moment même où les capillaires sont soumis à une pression considérable; la combinaison de ces eux facteurs déclencherait l'œdème. L'antihistaminique n élevant le seuil de la perméabilité capillaire leur permet de résister à la poussée hémodynamique et empêche insi le déclenchement de l'œdème aigu du poumon.

Nous avons pu constater en outre que l'injection intraveineuse de 3277 RP pratiquée 4 minutes après l'injection d'adrénaline c'est-à-dire au moment où l'œdème emble amorcé, arrête son évolution fatale dans la totalité des cas traités (7 animaux).

En résumé, l'injection préalable d'un antihistaminiqué e synthèse, le N-diméthylamino-2-propyl-1-thiodiphénylamine (3277 RP) empêche régulièrement l'œdème aigu u poumon, généralement mortel que détermine chez le apin l'injection intraveineuse d'une dose appropriée 'adrénaline. Une injection intraveineuse de l'antihistainique faite au moment ou l'œdème semble amorcé est usceptible d'enrayer son évolution fatale. Cette action ur l'œdème aigu du poumon, remarquable, semble reever d'une élévation du seuil de la perméabilité capilaire pulmonaire par l'antihistaminique de synthèse.

B. N. HALPERN (Paris) et S. CRUCHAUD (Lausanne)

Laboratoire de pathologie expérimentale de la Clinique édicale universitaire propédeutique, et Centre natioal de la recherche scientifique, Paris, le 12 novembre 947.

Summary

N-dimethylamino-2-propyl-l-phenothiazine (3277 R.P.) as been shown to possess an antihistamine and antinaphylactic activity that is unequaled up to now.

Hypodermic preventive injections regularly protect he rabbit against acute pulmonary œdema provoked by pinephrine. An intravenous injection of this substance nade 3 to 4 minutes after an intravenous injection of pinephrine, that is at the time an acute pulmonary edema seems to begin, is able to prevent fatal consequences.

The hypertensive action of adrenaline, and the resulting dilatation of the heart is not prevented by the henothiazine derivative.

The antihistamine substance seems to exercise an ffect on capillary permeability when preventing acute ulmonary œdema.

[1] H. STAUB, Helv. physiol. pharmacol. Acta *4*, C 54 (1946).

PRO LABORATORIO

Über eine wässerige Carotinlösung

Bei Untersuchungen über die Lipoxydase ergab sich ie Aufgabe, eine klare wässerige Lösung von Carotin u bereiten. Eine für diesen Zweck und wahrscheinlich uch für andere Versuche mit Carotinoiden geeignete Lösung wurde mit Hilfe der als «Tween»[1] bezeichneten Netzmittel erhalten[2].

Beispiel für die Herstellung einer Lösung, die 0,5 g Tween 60 und 10 mg Carotin enthält: Je 2 cm³ einer 25proz. Lösung von Tween 60 und einer 0,5proz. Lösung von Carotin (crist., Roche), beide in Chloroform, werden in einem Glasschälchen vermischt. Das Chloroform wird im Vakuum oder unter Überleiten von Stickstoff auf dem fast kochenden Wasserbade verdampft. Der Rückstand wird in wenig Wasser gelöst und die Lösung durch weiteren Zusatz von Wasser auf das gewünschte Volumen gebracht. Für photometrische Messungen wird die Lösung zur Entfernung geringer Verunreinigungen filtriert. – Die nach Verdampfung des Chloroforms erhaltene Lösung von Carotin in Tween 60 verhält sich wie eine übersättigte Lösung; deshalb hat die Vertreibung der letzten Chloroformmengen und der anschließende Zusatz von Wasser möglichst schnell zu erfolgen. Werden größere Mengen Tween 60 oder kleinere Mengen Carotin verwendet, so ist diese Vorsichtsmaßnahme nicht nötig. Tween 80 ist als «Lösungsvermittler» mindestens so gut geeignet wie Tween 60.

Die wässerigen Carotinlösungen erscheinen im durchfallenden Licht auch bei großer Schichtdicke als vollkommen klar. Eine gewisse Inhomogenität der Lösungen ergibt sich jedoch aus einem bei entsprechender Beleuchtung auftretenden Tyndall-Effekt, der auch bei wässerigen Lösungen von Tween allein nachzuweisen ist. Die mit 0,1–1,0 mg% Carotin enthaltenden Lösungen bestimmten Extinktionskoeffizienten (Stufenphotometer, Filter S_{47}) folgen mit befriedigender Genauigkeit dem BEERschen Gesetz. Unter Stickstoff im Eisschrank aufgehoben, ist photometrisch nach 3 Tagen keine, nach einer Woche eine geringe Abnahme der Lichtabsorption festzustellen. Die Lösungen bleiben klar beim Erwärmen, bei der Dialyse gegen Wasser[3] sowie nach Zusatz des doppelten Volumens von 0,2-m. Phosphat ($p_H = 4{,}5$–$8{,}3$), 20proz. NaCl, 10proz. $CaCl_2$, 0,1-n. HCl oder von Glyzerin. Ammoniumsulfat (Halbsättigung) und Trichloressigsäure bewirken eine Ausfällung des Tween/Carotin-Komplexes; Zusatz von Alkohol führt zu einer Ausscheidung von Carotin. Das Filtrat einer mit aktiver Kohle behandelten Lösung ist farblos. In natronalkalischer Lösung erfolgt Verseifung des Tween; das zum Teil ausgeschiedene Stearat (in Versuchen mit Tween 60) schließt Carotin ein. Aus der wässerigen Lösung läßt sich Carotin (+ Tween) mit Äther extrahieren, leicht jedoch erst nach Zusatz von Ammoniumsulfat. Der «Komplex» diffundiert in ein 5proz. Gelatinegel: nach 2 Tagen ist eine etwa 3 mm, nach 7 Tagen eine 6–8 mm tiefe gelbe Zone in dem Gel zu beobachten. Im System der Lipoxydase (Sojaenzym + Sojaölsäuren + O_2) wird das in der wässerigen Lösung befindliche Carotin schnell oxydiert. In höheren Konzentrationen hemmt Tween 60 diese Oxydation.

Bei biologischen Versuchen mit Tween-Präparaten ist deren Spaltbarkeit durch Lipasen zu berücksichtigen.

H. SÜLLMANN

Augenklinik der Universität Basel, 7. November 1947.

[1] Atlas Powder Company, Wilmington (USA.). Wir erhielten Tween durch die Firma Bohny & Co. AG., Basel. – Es wurden die technischen, nicht weiter gereinigten Präparate verwendet.

[2] Über die Verwendung von Tween in biologischen Versuchen vgl. R. J. DUBOS, Exper. *3*, 45 (1947); H. BLOCH, H. ERLENMEYER und E. SUTER, Exper. *3*, 199 (1947); G. GOMORI, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. *58*, 362 (1945); R. M. ARCHIBALD, J. biol. Chem. *165*, 443 (1946).

[3] Die Außenflüssigkeit hinterläßt nach dem Eindampfen einen geringen Rückstand mit den Löslichkeitseigenschaften des Tween.

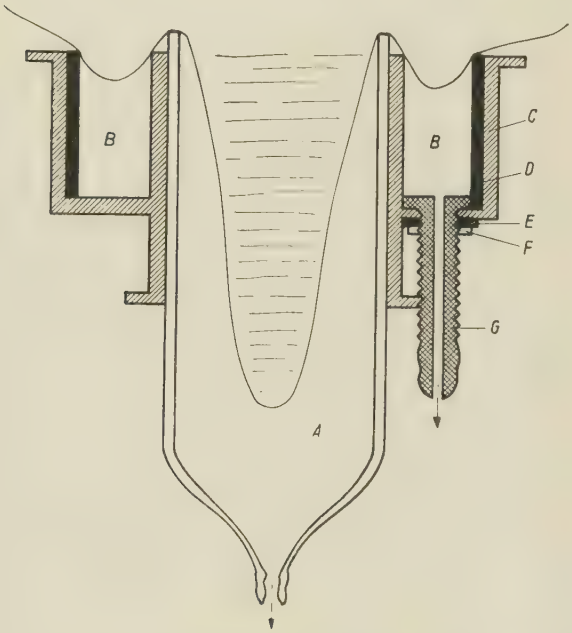
Summary

Preparation of a clear solution of carotene in water with the aid of "Tween".

Measuring Changes in Volume of the Teats of the Bovine Mammary Gland by means of Plethysmography

In the course of experiments in the field of the physiology of lactation we have elaborated a plethysmographic method for following the changes in volume of the teats of the cow's mammary gland. It is well-known that this volume depends upon different factors such as changes of temperature, mechanic stimuli, etc.

We have succeeded in constructing a simple apparatus, allowing us to objectivate changes in the volume of the teats of the bovine mammary gland, the cow being in the stable in an upright position. No disturbance of the psyche of the animal is caused. The apparatus is in no way a hindrance to the circulation of the blood in the teat under examination.



Principle of the method: The teat to be examined is put in a glass tube which is pressed firmly against the base of the mammary gland by means of a rubber ring which acts as a sucker, this sucker being connected with an ordinary vacuum pump. The applied vacuum causes the whole apparatus to stick tightly to the mammary gland. The glass tube is connected with a Marey tambour, thus allowing the volume changes of the test to be recorded on a smoked paper.

Description of the apparatus (cf. Fig. 1): The apparatus is composed of a tube of glass (*A*), the length and diameter of which depend upon the size of the teat to be examined. The upper lip of the tube is polished in order to avoid damage to the mammary gland. The lower part is funnel-shaped and is connected with a long rubber tube which passes between the legs of the cow and is inserted on a Marey tambour, this last allowing one to register the volume changes of the teat. The glass tube is firmly held in the central lumen of a rubber ring which acts as a sucker when a vacuum is applied to it. This sucker bears a circular groove *B*, connected by means of a valve *G* and a long rubber tube to an ordinary vacuum pump. In this way, a vacuum is applied to the whole space *B*, and the apparatus sticks firmly to the mammary gland.

The sucker is strengthened by a circular band of copper *D* which presses against the inner side of the lateral rubber wall *C* of the sucker. The valve *G* is screwed tightly into the base of the sucker by means of a screw *F* and a joint *E*. The vacuum applied should not exceed ½ atm. in order not to damage the mammary tissue.

Experimental details: One quarter of the mammary gland is covered with a thin layer of vaselin, so that the apparatus clings easily to the gland. A vacuum is applied, and the suction continues during the whole course of the experiment. The tube *A* is connected with the kymograph. Vacuum pump and kymograph are at a distance of about 3 m from the animal. The experiment does not last longer than 30 min., otherwise the animals become irritable and stamp, disturbing the registration.

By means of this method we were able to register the plethysmographic behavior of the teats of about 15 cows. The animals were in a big stable beside other animals. Most of the animals were very quiet and calm during the experiment, and a very good picture of the physiological contractions of the teats was obtained. In a few cases of ill-natured animals it was impossible to perform the experiment, as there was danger that the animal would smash the apparatus to pieces.

Full details of results will be published in "Archives Internationales de Pharmacodynamie et Thérapie".

This research has been aided by a grant of the Belgian Foundation I. R. S. I. A.

G. Peeters, L. Massart, and W. Oyaert

Pharmacological and Biochemical Department of the Veterinary College, University of Ghent, October 4, 1947.

Résumé

Description d'une méthode pléthysmographique permettant d'objectiver sur l'animal vivant les changements de volume des trayons du pis de vache.

DISPUTANDA

Zur Theorie des Föhns

In Vol. III/10 dieser Zeitschrift macht W. Kuhn auf zwei Ungenauigkeiten in meiner Föhntheorie[1] aufmerksam. Zu seinen Bemerkungen möchte ich kurz Stellung nehmen.

Mit Recht weist der Verfasser darauf hin, daß in der Figur[2], die das zweite Stadium der Föhnentwicklung zeigt, das Solenoidfeld in dem Bereich nicht richtig gezeichnet ist, wo die Föhnströmung über die Kaltluft aufgleitet. Hier sollten die Isosteren im Vergleich zu den Isobaren tatsächlich talauswärts ansteigen und ein Solenoidfeld mit gegensinniger Drehbeschleunigung erzeugen. In einem solchen ist das Temperaturgefälle entlang einer isobaren Fläche nach Norden gerichtet.

[1] K. Frey, Beiträge zur Entwicklung des Föhns und Untersuchungen über Hochnebel. Diss., Basel 1944, Rentsch Söhne, Trimbach-Olten 1945, S. 84–94. – K. Frey, Eine neue Ansicht über die Entwicklung des Föhns, S. 7–13. Erschienen im gleichen Verlag.

[2] In den erwähnten Arbeiten S. 89 bzw. S. 8.

Der erwähnte Fehler in der schematischen Darstellung at sich wohl eingeschlichen, weil in erster Linie gezeigt erden wollte, wie die Föhnströmung, dank der poten-ellen Energie des Solenoidfeldes, die kinetische Energie hält, um gegen das Hindernis der trägen Kaltluft in e Täler hinunterzustoßen. Einer in allen Teilen korrek-n Zeichnung des Solenoidfeldes steht auch erschwerend egenüber, daß das Gebirge und die Kaltluftmasse der äler überhöht dargestellt werden müssen, wodurch die ufgleitfläche zu steil ausfällt. Zudem ist die räumliche eschaffenheit des Solenoidfeldes direkt oberhalb der ufgleitfläche noch zu wenig genau bekannt, um eine in ie Einzelheiten gehende Zeichnung desselben zu ent-erfen, die den tatsächlichen Verhältnissen auch wirk-h gerecht wird.

W. Kuhn zeigt in einer schematischen Darstellung, aß in den beiden Punkten, in denen eine Stromlinie ne isobare Fläche durchsticht, die potentielle Tempera-ur den gleichen Wert haben muß. Dies ist theoretisch chtig, aber praktisch gewiß nicht so bedeutungsvoll ie man auf Grund seines und auch meines Schemas an-ehmen müßte. In beiden Darstellungen ist nämlich die altluftmasse im Vergleich zum Gebirge zu hoch ge-eichnet und hat eine zu steile Aufgleitfläche. Wenn bei öhnlage die Temperatur auf dem Gotthard z. B. 0° C nd in gleicher Höhe auf dem Pilatus 7° C beträgt, so ird man auf derselben isobaren Fläche gegen Norden msonst den Punkt suchen, der wiederum eine Tem-eratur von 0° C aufweist. Dieser Zustand wird deshalb icht eintreten, weil die Stromlinie, die vom Gotthard em abfallenden Geländeprofil folgt, das Niveau ihres usgangspunktes nicht mehr erreichen wird.

Es ist jedoch durchaus denkbar, daß den Solenoiden it gegensinniger Drehbeschleunigung entlang der Auf-leitfläche eine gewisse Bedeutung zukommt, doch cheint der direkte Zusammenhang mit der im Kaltluft-eil häufig feststellbaren nördlichen Windrichtung noch icht mit Gewißheit festzustehen. Zur Erklärung dieser rscheinung ist jedenfalls nicht zu übersehen, daß im altluftkeil das Luftdruckgefälle von Norden nach üden gerichtet ist.

Es ist gewiß notwendig, daß man diesen Solenoiden it gegensinniger Drehbeschleunigung vermehrte Be-chtung schenkt. Doch steht auf Grund der bisherigen ntersuchungen fest, daß ihre Anzahl, gegenüber den olenoiden, die ein Tiefergreifen der Föhnströmung be-irken, um ein Mehrfaches kleiner ist.

Wenn auch das bisherige Beobachtungsmaterial eine etaillierte Zeichnung des Solenoidfeldes noch nicht er-aubt, so möchte ich doch vorläufig die schematische arstellung des Hauptstadiums des Föhns in folgenden wei Punkten revidieren und mit den theoretischen Er-ordernissen besser in Einklang bringen:

1. Die Obergrenze der Kaltluft steigt talauswärts weniger steil an und verläuft schließlich fast isobaren parallel.

2. Das barokline Solenoidfeld nähert sich nach Norden allmählich dem barotropen Zustand. Besonders entlang der Aufgleitfläche ist die Entwicklung von Solenoiden mit gegensinniger Drehbeschleunigung möglich.

Im weitern bemerkt Kuhn, daß meine Untersuchungen den Anschein erwecken, daß ich die Entstehung eines dynamisch wirksamen, baroklinen Solenoidfeldes einzig dem antizyklonalen Absinken der Luftmassen zuschreibe und dabei die in erster Linie maßgebende Bedeutung eines großräumigen, horizontalen Luftdruckgefälles übersehe. Dazu möchte ich folgendes bemerken: Im antizyklonalen Stadium (1. Stadium) des Föhns ist das Luftdruckgefälle meist noch nach Norden gerichtet, verbunden mit nördlichen Winden auf dem Alpenkamm. Bereits in diesem Stadium entwickelt sich aber über dem nördlichen Alpenvorland ein isobares Temperaturgefälle von 2–6° C gegen den Alpenkamm. Die antizyklonale Erwärmung wirkt sich, bevor südliche Winde eintreten, über dem nördlichen Alpenvorland eben doch stärker aus als auf dem Alpenkamm, wenn Kuhn dies auch vom theoretischen Standpunkt aus bezweifelt. Damit ist aber der beginnende Druckfall, der eine Föhnlage einleitet, immer thermischer Natur und steht vorerst nicht in direktem Zusammenhang mit der großräumigen Luftdruckverteilung. Daß ich aber die dynamischen Druckänderungen, die durch den Vorbeizug von Zyklonen erzeugt werden, für die weitere Entwicklung und Verstärkung der Föhnlage keineswegs übersehe, beweisen die folgenden Ausführungen in meinen zitierten Arbeiten (S. 89 bzw. S. 8):

«Die Temperaturänderungen entgegengesetzten Vorzeichens beidseits der Alpen, verbunden mit dem Druckfallgebiet einer heranziehenden Depression, führen zur Abschwächung des Staugradienten und allmählich zur Ausbildung einer Föhnlage. Der Wind dreht auch auf dem Alpenkamm auf Sektor Süd und das isobare Temperaturgefälle vom nördlichen Alpenvorland bis zum Alpenkamm verstärkt sich noch weiter...»

Außerdem habe ich mich in einem besonderen Kapitel mit den Luftdruckänderungen befaßt, die zur Ausbildung von Föhn- und Staulagen führen und untersucht, in welchem Ausmaß dieselben thermisch bedingt sind. Die Kritik in diesem Punkte erscheint also als überflüssig.

Zu einer fruchtbaren Weiterentwicklung der Föhnforschung sind wohl umfassende Untersuchungen und eine noch genauere Erfassung der meteorologischen Elemente unerläßlich. Von allererster Bedeutung bleibt dabei, daß die Meteorologie des Föhns nur noch vom dreidimensionalen Standpunkt aus betrieben wird.

K. Frey

Olten, den 9. November 1947.

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Animal Genetics and Medicine

By Hans Grüneberg, PH. D., M. D. 296 pp., 33 Figs. (Hamish Hamilton Medical Books, London, 1947) (21*s*)

Der Mediziner, der komplizierte erbbedingte Syndrome zu beurteilen hat, wird in vielen Fällen mit Enttäuschung feststellen, daß ihm die experimentelle Lehrbuchgenetik keine erklärenden Modelle liefern kann. Daraus ergeben sich häufig bedauerliche Mißverständnisse, die dazu führen können, ein Studium der formalistischen Genetik, soweit sie sich etwa auf die *Drosophila*-forschung stützt, als nichtanwendbar abzulehnen. Diese Haltung ist zwar falsch, aber verständlich. Obschon die fundamentale Organisation der Erbsubstanz und auch

die allgemeinen Wirkungsprinzipien der Gene bei allen Lebewesen übereinstimmen, unterscheiden sich die entwicklungsphysiologischen Systeme verschiedener Organismen so stark, daß die Ätiologie des Einzelfalles in der Humanpathologie mit allzuweit gespannten Verallgemeinerungen nicht geklärt werden kann.

Grüneberg zeigt nun aber in seinem flüssig und interessant geschriebenen Buch, wie stark die Erbpathologie des Menschen durch das Studium analoger oder direkt homologer Erbsyndrome bei Säugern gefördert werden kann. Der Autor, selbst Mediziner, ist bestens ausgewiesen durch seine Untersuchungen über genbedingte Entwicklungsabnormalitäten bei Mäusen.

Die einleitenden Kapitel bringen eine grundsätzliche Bereinigung der Probleme. Es wird gezeigt, daß eine scharfe Trennung zwischen Erbkrankheiten und umweltbedingten Schäden nicht möglich ist und daß mit dem Nachweis der Heredität einer Anomalie oder Letalität die Forschungsaufgabe keineswegs gelöst, sondern erst gestellt ist. Als letztes Ziel gilt es, für jeden Fall die primäre Genwirkung aufzudecken; diese stellt nach der Auffassung Grünebergs stets eine und nur eine chemische Wirkung dar. Ja nach ihrer Spezifität reagieren die verschiedenen Gewebe auf die mutierte genische Konstitution verschieden. Primäre Phäne können sodann in den hierarchisch konstituierten Entwicklungssystemen der Wirbeltiere zahlreiche sekundäre Phäne nach sich ziehen. Es gelingt Grüneberg auf diese Weise, komplizierte pleiotrope Schädigungsmuster zu analysieren, womit der heuristische Wert seiner Postulate erwiesen ist.

In vorbildlich anschaulicher Weise führt der Autor anschließend in die Erbpathologie der verschiedenen Organsysteme ein. Er beschränkt sich auf eine Klinik der Nager und zieht ständig die Parallelen zu entsprechenden Erbsyndromen beim Menschen. Hier nun wird der Mediziner erklärende Modelle in großer Zahl finden. Neben den Erbkrankheiten des Nervensystems, der Sinnesorgane, des Skelettes, der Haut und des Urogenitalapparates werden auch verschiedene Anämien, serologische Charaktere und Ergebnisse über erbbedingte Resistenz gegen Infektionen behandelt.

Der Autor darf überzeugt sein, daß sein Buch viele dankbare Leser finden wird und daß ein Studium der Erbkrankheiten bei Säugetieren, so wie es hier angebahnt ist, sich zu einer unentbehrlichen Grundwissenschaft der Medizin entwickeln wird.

E. Hadorn

L'Evolution de la notion du phénomène physique des primitifs à Bohr et Louis de Broglie

Par Jean Pelseneer. 177 pp.

(Office des cours du Cercle des Sciences de l'Université libre de Bruxelles, 1947) (110 belg. fr.)

Der Verfasser hofft, durch sein Buch, das aus Vorlesungen an der freien Universität Brüssel entstanden ist, eine Lücke in der Literatur auszufüllen, indem er eine Ideengeschichte der Physik zu geben versucht, welche den Leser die naturphilosophischen Konsequenzen der modernen Wellen- resp. Quantenmechanik verstehen lehren soll. Die ersten beiden Kapitel, «Les origines de la notion du phénomène naturel» und «Signification du polythéisme et du monothéisme sur point de vue de l'évolution de la pensée scientifique», stellen die Entwicklung des menschlichen Geistes zum wissenschaftlichen Denken nach dem bekannten positivistischen Schema Comtescher Observanz dar. Die beiden folgenden Kapitel, «Importance de l'idée d'analogie» und «Histoire de la notion de la loi naturelle», bringen originelle Bemerkungen zur Psychologie der Forschung, die allerdings von Einseitigkeiten nicht ganz frei sind, wie beispielsweise die Behauptung, daß die moderne Wissenschaft aus dem Geist der protestantischen Reformation geboren sei (S. 113), während diese Geburt doch aus dem allgemeinen Zeitgeist der Renaissance, oder genauer des Barocks, d. h. wenn überhaupt aus religiösen Quellen, dann sowohl aus der protestantischen wie aus der katholischen Form der Reformation erfolgte. Besonders treffend scheint dem Referenten die Darstellung des Streites zwischen Newtonianismus und Cartesianismus im 17./18. Jahrhundert im Kapitel «La dialectique de la science» gelungen zu sein, welcher direkt als ein Vorspiel zum modernen Dualismus zwischen kontinuierlichem Wellenfeld und diskontinuierlichen Quantenkorpuskeln erscheint. Mit der Darstellung der Überwindung der mechanistischen Kausalität durch die moderne Quantenstatistik schließt der Autor ab, nicht ohne mit de Broglie die Hoffnung auszusprechen, daß diesem Zusammenbruch der klassischen Mechanistik ein Neuaufbau der Physik unter «höheren Formen» mathematischer Gesetzlichkeit folgen werde. Für den Historiker stellt das Werkchen durch seine Anmerkungen, welche in großer Zahl dem laufenden Texte folgen, eine Fundgrube historischer Details dar, die der Fachmann mit Interesse entgegennimmt.

J. O. Fleckenstein

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

EUROPA RENASCENS

Redaktionelle Vorbemerkung

Die nachfolgenden Bemerkungen zu dem vier Monate zurückliegenden Anatomenkongreß in Bonn haben ihre Aktualität keineswegs eingebüßt. Es spricht aus ihnen Objektivität und menschliche Anteilnahme, so daß wir sie als produktiven Beitrag zu einer europäischen Wissenschaftsgemeinschaft veröffentlichen.

Wir würden es begrüßen, wenn auch andere Wissenschafter ihre Erfahrungen zu einem positiven Gedankenaustausch an dieser Stelle veröffentlichten, damit alles getan werden kann, um die notwendige Einordnung der deutschen Wissenschaft in den Gesamtrahmen des europäischen Geisteslebens bald vorzubereiten. Je aktiver und verantwortungsbewußter sich diese Einordnung vollzieht, um so größer die Garantie, daß viele Fehler, die nach dem ersten Weltkrieg begangen wurden, dieses Mal vermieden werden. Wir bitten daher alle Wissenschafter, sich nicht nur auf ihr Spezialgebiet zu beschränken, sondern auch an größeren europäischen Fragen konstruktiv teilzunehmen.

Anatomical Congress, Bonn

(September 1947)

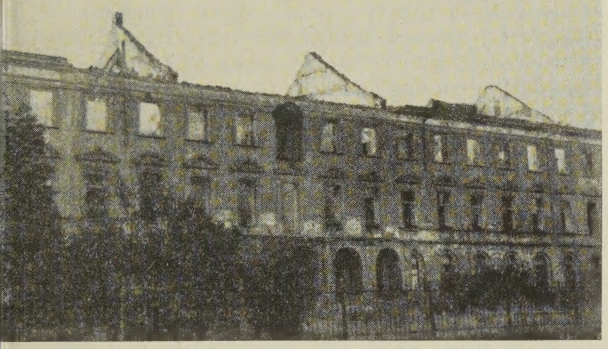
Impressions and reflections

Entering the British Zone of Germany from Holland a most depressing experience. Holland is cheerful, gorous, and constructive: Germany is gloomy, lethargic, id destroyed.

Nobody leaving Germany twelve years ago (as I did) uld then have forseen the present utter destruction sulting from Hitler's total war—a war for which Ger- any had herself made full preparation and indeed com- itted the first act of aggression.

Twelve years ago the frontier guards were young, rong, and menacing members of the SS. Now only a uple of undernourished elderly men in semimilitary uipment were pretending to watch the border.

The station was completely smashed, and hungry ildren rushed for food thrown at them from the rail- ay carriages.



University of Bonn, 1947.

After the journey through the ruins of the Ruhr and he churchyards of Cologne, I was relieved to see the ills and mountains of Bonn and its neighbourhood. I oon learned that up to 40 % of Bonn too was destroyed, ut in spite of this, Bonn was considered to be an "intact" own in comparison with others elsewhere.

The Anatomical Congress[1] met in the Anatomical nstitute of Bonn University (Director, Professor Stöhr). About eighty members had arrived from various parts f Germany, but none from the Russian Zone. Thirty ommunications were listed on the programme, but more han this number were actually given.

The personnel of the Anatomical Institute had made everish preparations for this Congress, clearing up ubble and improving the condition of the building by utting in new windows and making small repairs. On he whole, the Anatomy laboratory is one of the very ew laboratories which are comparatively little damaged. The Physiology and Biochemistry laboratories were urnt out, while the entire clinical school was com- letely destroyed. Much of the equipment had been aved in the cellars, but the entering Allied forces either equisitioned what was still of use, or destroyed scientific nstruments, in the early days of victory.

[1] Responsible for the organization and the invitations were rofessor Veit, Anatomy, Cologne University, and Professor Stöhr.

The main building of the University, situated in the middle of the town, was burned out during the bombing in the last phases of the war. It contained almost all the faculties, apart from the medical and scientific departments. The Rector of the University, Professor H. Konen, is making the greastest efforts to get repairs done and save what can still be rescued out of the debris. In a personal talk with him I gained the impression that the reconstruction of the University is his last and only interest in life; and that the fate of the University is in very good hands. The history of reassembling the widely scattered bits of the University after the defeat is a most interesting one and will certainly be recorded in the annals of the University. It was amazing to see that, in spite of all the difficulties, something like a university was working again. An example of what had been achieved was the almost magical reconstruction of a pathological department out of rubble amidst the utter destruction of the medical school; thanks to the efforts of the Professor, Dr. W. Ceelen, and the reconstruction of the radiological Department, by Professor Janker.

To meet the demands of the Congress some microscopes had been borrowed, and for later use a few microtomes were expected, but histological dyes had not yet been obtained.

The scientific communications had three main topics —developmental anatomy, functional anatomy, and neurohistology. Functional anatomy has always been well represented in Germany, and the journal "Morphologisches Jahrbuch" before the war was full of interesting papers in this field. Professor Benninghoff who has moved from Kiel to Marburg, presented, with Timmer, an interesting paper on the structure of long bones, and Pauwels (Aachen) read a detailed and elaborate paper on the architecture of the substantia spongiosa, which was most instructive.

In the field of Neurohistology, Stöhr and his school attracted special attention. In the last ten years they have opened up quite a new and promising field of research, the *pathology* of the sympathetic system. In this most difficult field it is not surprising that Stöhr with his excellent staining technique and his experience of the normal histology of the autonomic system, has made very interesting observations. H. Bauer, well-known for his work on glia, showed excellent silver preparations of the visual cortex, and also a film on the histology of this cortical area. H. Spatz and his colleagues from Dillenburg gave very interesting papers on the hypothalamus, and Bachmann of Göttingen made a contribution on the cytology of this region.

One can only hope that the German neurohistologists will continue their observations into the experimental field. But, owing to lack of equipment and feeding stuffs for animals, any experimental work is at present quite impossible.

From the social point of view, the meeting was very successful. As the Anatomical Society had not been given permission by the C.C.G. to be reconstituted, it was only an informal meeting of German anatomists, and had nothing of the tense atmosphere and the social difference between "Professor" and "Assistant" which has often been characteristic of German official gatherings. The spirit of mutual respect and helpfulness was very gratifying. As the quality of lectures and observations was excellent, I asked many of the directors of the laboratories when these results had been achieved, and heard to my surprise that a fair number of scientific observations had been made during the war. However, they pointed out to me that the present communications

were only the outcome of past research, and that owing to lack of equipment and buildings, etc., no serious work had been done during the last three years. It was not uncommon to meet a German professor without an Institute, or a professor who was unable to tell whether his University itself would continue.

On the other hand, new universities have been established, such as the one in Mainz in the French Zone. From information I heard about this new University, it appears that the French Military Government made strenuous efforts to provide all the scientific equipment necessary for teaching and research, and that the intellectual and cultural level was reputed to be exceptionally high. Unfortunately, however, the food situation in the French Zone provided even less calories than in any other zone.

In talks with many of the younger representatives at the Congress (Assistants and Privatdozents), I gained the impression that disgust for the past Nazi régime is very great, and that they are most eager to be allowed a share in international affairs and in scientific developments also. I outlined in a previous report (Exper. *3*, 382 [1947]) that it is in the common European interest to admit German scientists again to international meetings. But no immediate general progress in international thought can be expected from Germany until the greater part of the people are again living above starvation level.

From the various clinical professors I heard of the appalling increase of tuberculosis amongst students; and the food served to them during lunch in one of their university feeding centres was of the most inferior quality, as well as being insufficient in quantity. I can only warn the supporters of those organizations which do a lot to help as regards welfare, etc., not to expect to find an early revival of the international spirit and outlook among the Germans as a result of their efforts. All the help so far provided by various international bodies is too small in comparison with the size of their task. I do not wish to belittle these efforts—on the contrary no praise can be too high for these truly humanitarian workers—but I want to try to prevent their becoming embittered and cynical like many of my Dutch and Norwegian friends who have told me that the children they fed and helped after the first world war were the invaders of their countries in the second world war.

There is no doubt that this work of feeding and caring for the bodily welfare of a defeated people is of the utmost importance, and it is only after a reasonable standard of living has been achieved that any set of moral values can be inculcated into such people.

If welfare workers can realize the vital importance of both these aspects in rebuilding the lives of a defeated people, there need be no sense of embitterment or frustration if they do not see the results of their work at once.

If the German problem is not solved on a European scale, no temporary relief will prevent the emergence of new national elements among students seeking revenge and national recovery even more violently than twenty years ago.

Why should this be so ? not because the German mind is fundamentally more evil than that of other nations, but because Hitler's total war has brought upon Germany total misery, which can only be alleviated by a combined European and American effort of great magnitude.

An immediate and practical step which can be taken is the exchange of teachers and students, which is very important. Such an exchange has already been made between Oxford and Bonn. Oxford students took part in an International Summer School in Bonn and have invited German students to come to this country. Books and journals are most urgently needed, and subscribers who no longer want their copies of such journals should forward them to a German university, where they will be most gratefully received.

International bodies meeting in the near future should seriously consider whether they should admit German scientists to their meetings. Germans cannot be permanently excluded, and the longer the period of exclusion, the greater will be the resentment, and the more difficult will be international understanding. A definite ruling on this problem should soon be made by those responsible for international meetings, and I would like to suggest to German societies, such as the former Anatomical Society, that they have their part to play too. I think that they should exclude members (as the former German Professor of Anatomy of Strasburg), who committed definite war crimes during the German occupation of France. I am sure that such a gesture and public dissociation from criminal members on the part of the German societies would facilitate reconciliation with the other nations.

In a recent talk with Professor M. KLEIN of the French University of Strasburg, I gained the impression that even university teachers who (like him) have suffered severely from the Nazi occupation (Buchenwald and Auschwitz) are not hostile towards German scientists as such, but are of course eager to see signs of discrimination coming from the Germans themselves, such as I have already suggested.

This article may possibly considered to be too biased towards the German people; but only those who have seen conditions inside Germany for themselves will realize the magnitude of the task of rebuilding Germany so that it may eventually take its place in the European scene. This task is one which calls for international action on a humanitarian basis beyond the limits of national considerations.

On the other hand, the collaboration of Germany is essential to the success of any such scheme; but the Germans must not allow their common misery to blind them to the fact that crimes have been committed in their name, and that the time has now come to dissociate themselves from those responsible for these crimes, so that a new start may be made in the solving of their problems.

All those Germans who still claim to be unaware of such crimes and who might call the War Crimes Tribunal of Nuremberg "enemy propaganda" are asked to read E. WIECHERT'S[1] personal description of his stay in Buchenwald, "The Forest of the Dead": the most factual account written so far by one of the best German writers.

P. GLEES

[1] Published by V. GOLLANCZ (London, 1947).

XIII[e] Congrès international de zoologie

Paris 1948

Le XIII[e] Congrès international de zoologie se tiendra à Paris en 1948, du mercredi 21 juillet au mardi 27 juillet.

Il sera présidé par M. CAULLERY, membre de l'Institut, président du comité permanent des Congrès de zoologie.

La correspondance doit être adressée au secrétaire général, M. FISCHER-PIETTE, professeur au Muséum, 55, rue de Buffon, Paris-V[e], ou pour ce qui concerne les sections aux présidents de ces différentes sections.